ZUM QUANTITATIVEN SEROLOGISCHEN NACHWEIS VON BLUTPLASMA IN ROH- UND BRÜHWÜRSTEN

Volker Daum

Diss
München

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der
Lebensmittel tierischen Ursprungs der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Lehrstuhl Prof. Dr. Dr. h.c. L. KOTTER

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Priv.-Doz. Dr. med.vet. Dr. med.vet. habil. Ch. RING

ZUM QUANTITATIVEN SEROLOGISCHEN NACHWEIS VON BLUTPLASMA IN ROH- UND BRÜHWÜRSTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Volker DAUM

aus

München

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Priv.Doz. Dr. Dr.habil Ch. Ring

Korreferent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

In Dankbarkeit meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATUR	2
2.1	ZUM ANGEBOT AN PROTEIN FÜR DIE WELTBEVÖLKERUNG	2
2.2	BLUTPLASMA	4
2.2.1	ZUR ENTSTEHUNG DES BEGRIFFES "BLUTPLASMA" UND BEFÜRWORTUNG EINER VERMEHRTEN VERWENDUNG ALS LEBENSMITTEL	4
2.2.2	ZUR ZUSAMMENSETZUNG UND PHYSIOLOGISCHEN WERTIGKEIT VON BLUTPLASMA	6
2.2.3	ZUR GEWINNUNG VON BLUTPLASMA	8
2.2.4	LEBENSMITTELRECHTLICHE VORSCHRIFTEN FÜR DIE VERARBEITUNG VON BLUTPLASMA IN FLEISCH-ERZEUGNISSEN	11
2.3	RESTBLUT IM MASCHINELL HARTSEPARIERTEM FLEISCH	16
2.4	EXTRAKTION BESTIMMTER EIWEISSE AUS FLEISCH-ERZEUGNISSEN	18
2.4.1	EIWEISSDENATURIERUNG	18
2.4.2	EXTRAKTION	20
2.5	NACHWEIS VON FREMDEIWEISS IN FLEISCH-ERZEUGNISSEN	21
2.5.1	SEROLOGISCHE METHODEN	21

		Seite
2.5.2	PRÄZIPITATION	22
2.5.2.1	RINGTEST	22
2.5.2.2	AGAR-GEL-DIFFUSION	23
2.5.2.3	IMMUNOELEKTROPHORESE	24
2.5.2.4	INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)	27
2.6	NICHT-SEROLOGISCHE METHODEN	30
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	32
3.1	MATERIAL	32
3.1.1	CHEMIKALIEN	32
3.1.2	ANTIGENE	33
3.1.2.1	MODELLWÜRSTE	34
3.1.2.1.1	ROHWURST	34
3.1.2.1.2	BRÜHWURST	35
3.1.2.1.3	HANDELSWARE	36
3.1.2.1.4	BLUTPLASMA	36
3.1.3	IMMUNISIERUNG UND SERUMGEWINNUNG	37
3.1.4	BESCHICHTEN DER OBJEKTTRÄGER	38
3.1.5	STANZEN DER BASSINS UND EINFÜLLEN DER REAGENTEN	39
3.1.6	KONSERVIERUNG UND SENSIBILISIERUNG DER ERYTHROZYTEN	40
3.2	METHODEN	41

		Seite
3.2.1	EXTRAKTION	41
3.2.2	AGAR-GEL-DIFFUSION	42
3.2.2.1	AUSWERTUNG	42
3.2.3	INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)	43
3.2.3.1	AUSFÜHRUNG DES TESTS	43
3.2.3.2	AUSWERTUNG DES TESTS	44
3.4	VORVERSUCHE	45
3.4.1	ERGEBNISSE	46
3.4.1.1	AGAR-GEL-TEST	46
3.4.1.2	INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION	47
3.5	VERSUCHE	48
3.5.1	AGAR-GEL-DIFFUSION (OUCHTERLONY)	48
3.5.1.1	ROHWURST	48
3.5.1.2	BRÜHWURST	49
3.5.1.3	HANDELSWARE	49
3.5.2	INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)	50
3.5.2.1	ROHWURST	50
3.5.2.2	BRÜHWURST	51

		Seite
4	DISKUSSION	52
5	ZUSAMMENFASSUNG	57
6	SUMMARY	59
	TABELLEN	61
	LITERATURVERZEICHNIS	79

1 EINLEITUNG

Blutplasma aus dem Blut von Rindern und Schweinen enthält hochwertiges tierisches Eiweiß. Seine Verwendung bei der Herstellung von Fleisch-Erzeugnissen ist durch die Fleisch-VO qualitativ und quantitativ beschränkt. Beim quantitativen serologischen Nachweis von Blutplasma könnten Restblutgehalte im verarbeiteten Muskelfleisch die Auswertung stören. Vor allem maschinell hartsepariertes Fleisch kann höhere Restblutgehalte aufweisen als sachgerecht entblutetes Fleisch. Es war zu klären, ab welcher Verdünnungsstufe bei serologischen Untersuchungen ein Blutplasmazusatz unterstellt werden kann, und ob diese Verdünnungsstufe bei Probenmaterial, das eine gewisse Menge an maschinell separiertem Fleisch enthält, verändert wird.

2 LITERATUR

2.1 ZUM ANGEBOT AN PROTEIN FÜR DIE WELTBEVÖLKERUNG

Die Weltbevölkerung hat in den vergangenen 10 Jahren um mehr als 20 % zugenommen (Statist. Bundesamt, 1983). Das Nahrungsangebot, insbesondere an pflanzlichen und tierischen Proteinen, ist nicht entsprechend gestiegen (POTTHAST, 1978). Bei einem Eiweißdefizit von 5 Mio. Jahrestonnen besteht auch im Falle eines vermehrten Einsatzes technischer Möglichkeiten bei der Erschließung von Nahrungsquellen kaum Aussicht auf ein Gleichgewicht zwischen Angebot und Nachfrage (GORBATOV, 1976).

Einem Vorhalt, wonach in privaten und staatlichen Vorratsstellen der hochentwickelten Länder, vor allem des EG-Bereichs, ein Eiweißüberschuß lagere, wäre entgegenzuhalten, daß diese Eiweißreserven zur Sicherung der Einkommenssituation ihrer Produzenten auf ein Preisniveau subventioniert werden, das weit über den Weltmarktpreisen liegt. Diese Reserven sind weder bedarfsgerechte noch marktgängige Angebote. Ein Interesse, neue Eiweißquellen zu erschließen (UCHMANN et al., 1980), die auf niedrigem Preisniveau kostendeckend sind (WISMER-PEDERSEN, 1980), besteht demzufolge auch in Industriestaaten, allerdings nur für Eiweiße tierischen Ursprungs. Bei pflanzlichen Eiweißen hat ein Überangebot (Sojaeiweiß) bereits zu niedrigen Preisen geführt (GORBATOV, 1976).

Auf dem Fleischsektor geht es in der Bundesrepublik Deutschland vor allem darum, vorhandene Quellen für preisgünstiges Eiweiß tierischer Herkunft voll auszuschöpfen (POTTHAST, 1978). Zu den zu wenig genutzten Eiweißquellen zählt auch Blutplasma (CIRONEANU et al., 1974), das tiefgefroren derzeit nur 0,80 DM/l bis 1,50 DM/l kostet, während für Rindfleisch im Durchschnitt 7,- bis 9,- DM/kg zu bezahlen sind (Stat. Amt d. Landeshptst. Mchn, 1982).

2.2 BLUTPLASMA

2.2.1 ZUR ENTSTEHUNG DES BEGRIFFES BLUTPLASMA UND BEFÜRWORTUNG EINER VERMEHRTEN VERWENDUNG ALS LEBENSMITTEL

In den dreißiger Jahren rügten GRÜTTNER (1932) und KELLER (1938), daß - trotz hoher Blutmehlimporte - und abgesehen von einer in geringem Umfang durchgeführten Produktion von Blutserum (z.B. Süßwarenherstellung, Stoffdrucke, -farben, Leim), Fibrin (z.B. Mastfutter, Arzneimittel), Blutkuchen (z.B. Kraftfutter, Kunstholz) und Blutmehl (z.B. Futtermittel, Düngemittel) in Deutschland keine weiteren technischen Möglichkeiten geschaffen wurden, Blut für die Weiterverarbeitung aufzubereiten. Nur ca. 7 % der anfallenden Schlachtblutmenge wurden damals sinnvoll genutzt (LENZ, 1939). Einer stärkeren Verwertung des Blutes bei der Fleischwarenherstellung waren s.Z. durch dessen Farbe technologische Grenzen gesetzt.

1938 stellte SCHWERDT (1938) das FIBRISOL-Verfahren vor. Danach verliert Blut durch Zusatz von ca. 17 g Na-Citricum/l seine Gerinnungsfähigkeit. Die zelligen Bestandteile solchen Blutes können dann abzentrifugiert und ein flüssiger Überstand gewonnen werden, der zunächst als "gelbliche Flüssigkeit", später als "Blutplasma" bezeichnet wurde. Auf 4 ^{o}C gekühlt konnte Blutplasma bereits 1939 zehn Tage hygienisch unbedenklich gelagert werden (SCHIEBEL, 1939).

Nach 1.42 der Leitsätze für Fleisch und Fleisch-Erzeugnisse des Deutschen Lebensmittelbuches ist "Blutplasma" "die Flüssigkeit, die nach Zusatz von gerinnungshemmenden Stoffen und Entfernen der zelligen Bestandteile aus dem Blut von Rindern (ausgenommen Kälber) und Schweinen gewonnen wird".

Aus Inlandsschlachtungen von 37,5 Mio. Schweinen und 4,5 Mio. Rindern im Jahre 1982 (BMELF Stat. Monatsbericht Heft 2/83) fielen bei durchschnittlich 2,0-3,5 l Blut/Schwein und 10-15 l Blut/Rind (GRAU, 1969; TÄNDLER u. STIEBING, 1979) insgesamt ca. 140 Mio. Liter Blut an (POTTHAST, 1978), die bis zu 70 % über Vorkläranlagen, mitunter aber auch direkt in die Kanalisation gelangten und eine enorme Umweltbelastung darstellten (ANNUSS, 1978). Der verbleibende Teil wurde vor allem von der Futter- und Düngemittelindustrie (GRÜTTNER, 1932; LENZ, 1939; ANNUSS, 1978) sowie vom fleischverarbeitenden Gewerbe (ca. 10 % der Gesamtblutmenge) benötigt. Die vermehrte Verwendung von Schlachttierblut und von Bestandteilen des Blutes als wertvolle Eiweißquellen wurde in den vergangenen 50 Jahren immer wieder propagiert (u.a. LERCHE, 1938; KELLER, 1938; LENZ, 1939; KOTTER u. SEUFERT, 1977).

2.2.2 ZUR ZUSAMMENSETZUNG UND PHYSIOLOGISCHEN WERTIGKEIT VON BLUTPLASMA

Blutplasma enthält 6,5-8,8 % hochwertige Proteine, von denen Albumine, Globuline, Fibrinogen und Prothrombin die wichtigsten sind (BELITZ u. SCHORMÜLLER, 1965). Die Anteile an Albumin und Globulin schwanken erheblich (GRAU, 1965). Der Fibrinogenanteil des Blutplasmas liegt bei etwa 0,25 %, so daß Blutserum nur 6,2-8,5 % Eiweiß enthält.

Auf die hohen Anteile der Plasmaproteine an essentiellen Aminosäuren wird seit 50 Jahren verwiesen, zuletzt von KOTTER u. SEUFERT (1977). Das Eiweiß des Blutplasmas sei wegen seiner günstigen Aminosäurenbilanz höher zu bewerten, als das Eiweiß von Würsten aus Fleisch mit normalen Bindegewebseiweißgehalten. (In der chemischen Analytik erscheint das Eiweiß des Blutplasmas als "bindegewebseiweißfreies Fleischeiweiß [BEFFE]" im Sinne von 1.72 der o.a. Leitsätze.)

In der folgenden Übersicht sind Gehalte an essentiellen Aminosäuren der Plasmaproteine mit denen der Proteine von sehnenarmem Muskelfleisch verglichen (GÜNTHER, 1982). (Die Gehalte sind in Gramm pro 100 g Eiweiß angegeben.)

	Plasma-Proteine	Proteine von sehnenarmen Fleisch
Threonin	5,4	4,7
Tryptophan	1,3	1,1
Isoleucin	2,0	4,7
Leucin	9,4	8,0
Lysin	8,5	8,5
Methionin	0,5	2,5
Phenylalanin	5,5	4,5
Valin	6,5	5,5

Von großer Bedeutung sind auch die Lipide des Blutplasmas, weil sich unter ihnen Strukturlipide befinden, die für die Entwicklung des Gehirns von essentieller Bedeutung sind und in pflanzlichen Lipiden überhaupt nicht, in Lipiden der Skelettmuskulatur in geringem Umfange vorkommen (KOTTER u. SEUFERT, 1977).

Der Fibrinogenanteil ist fleischtechnologisch von Bedeutung. Blutplasma ist nämlich auf Grund des Fibrinogenanteils befähigt, bei der Erhitzung analog dem in Lösung gebrachten Myosin zusammenhängend zu koagulieren (KOTTER u. SEUFERT, 1977).

2.2.3 ZUR GEWINNUNG VON BLUTPLASMA

Die hygienische Qualität des Blutplasmas hängt entscheidend von der Art der Blutgewinnung ab.

Die seit 1938 vorgestellten Blutplasmagewinnungsanlagen (NIESS u. HORNUNG, 1940; HEINZ, 1972; SCHÄLLIBAUM, 1977; BREER, 1978; DREPPER u. DREPPER, 1981) markieren eine Entwicklung vom offenen zum geschlossenen Entblutungssystem (STOHRER, 1937; METTLER, 1975). HEINZ (1969), CIRONEANU et al. (1974), METTLER (1975), DÜPJOHANN (1976), BREER (1978), BOROWSKY (1981) und GÜNTHER (1982) haben sich mit geschlossenen Blutgewinnungssystemen befaßt, bei denen Säuberung der Stichstelle und die Verwendung eines Hohlmessers als Anfangsstück des geschlossenen Systems Voraussetzung sind um hygienisch einwandfreien Rohstoff zu garantieren. Beispiele für enormen technischen Fortschritt auf diesem Sektor sind die Anlagen in Herning/Dänemark und Würzburg.

Im Idealfall werden am Schlachtband hängend zur Entblutung kommende Schweine und Rinder an der Stichstelle mittels Wasserstrahl gereinigt und mit einem an ein Leitungssystem angeschlossenem Hohlmesser (mit und ohne Unterdruck) (HEINZ, 1970 u. 1972; CIRONEANU et al., 1974) unter Zuführung entsprechender Mengen von Na-Citrat über eine Schlauchleitung in ein Sammelgefäß entblutet. Fleischbeschaulich freigegebenes Blut wird dann abgekühlt aus dem Sammelgefäß in ein Rührgefäß (NIESS u. HORNUNG, 1940) weitergepumpt und separiert. Der Überstand - das Blutplasma - kann danach frisch, gefroren oder getrocknet verwendet werden.

Schweine und Rinder werden in diesen Anlagen über ein mit einem Leitungssystem gekoppeltes Hohlmesser entblutet, gleichzeitig wird ein zweites Hohlmesser nach automatischem Entfernen aus der Stichstelle am Schnittblatt zuerst desinfiziert und dann äußerlich mit heißem und kaltem Wasser abgespült. Ein elektronisch gesteuertes Entblutungskarussel garantiert bei Schweinen große Schlachtkapazität (max. 400/h). Durch elektronische Prozeßsteuerung wird jedes Tier automatisch gekennzeichnet und sichergestellt, daß auf Grund einer vorgegebenen Schlachtzahl pro Sammeltank (z.B. max. 30 Schweine) nur Blut der in einer Gruppe zusammengefaßten Schweine in einen Behälter abfließt. Blut aus Sammeltanks, in denen sich Blut eines beanstandeten Tieres befindet, gelangt durch manuelle Eingabe der jeweiligen Schlachtnummern automatisch in einen Speicher zur hygienisch unbedenklichen industriellen Verwertung.

Das Blut tauglicher Tiere fließt nach Abkühlung auf ca. 28 °C aus den Sammeltanks über Rohrleitungen einem Vorlagetank zu, von dem aus die Zentrifuge (14.000 U/min) beschickt wird. Die zelligen Bestandteile (Dickblut) werden aus dem geschlossenen System ausgeschieden, das weitergepumpte Blutplasma gelangt durch einen Plattenkühler in einen Tank, in dem es bei 4-8 °C gelagert wird. Die Anlagen werden von 1-2 Personen gewartet und überwacht.

Blutplasma wird in folgenden Formen verwendet:

a) Flüssiges Blutplasma wird als labiler Rohstoff entweder direkt verwendet, oder eine gewisse Zeit gekühlt vorrätig gehalten, oder es gelangt in Tanks von Kühlfahrzeugen zur raschen Verteilung an Fleischwaren- oder Arzneimittelhersteller.

b) Trockenblutplasma hatte - weil lagerfähig - vor der Scherbeneisfrostung größere Bedeutung. Die Trocknung ist energieaufwendig und erfolgt auf Walzen (180 °C) oder durch Versprühen (165 °C).

c) Die Scherbeneisfrostung erfolgt bei -40 °C. Das Blutplasma wird vom Tank aus kontinuierlich in eine mittels eines Rotationsverdampfers gekühlte Plastikwanne geleitet. Das Kältemittel fließt in die Trommel des Rotationsverdampfers, das Flüssigplasma gefriert an der Trommeloberfläche und ein Eisfräser löst das gefrorene Blutplasma von der Oberfläche der Trommel. Das Scherbeneisplasma wird dann i.d.R. in Säcke abgefüllt und bei Gefriertemperaturen gelagert und transportiert.

Eine hygienischen Anforderungen genügende Gewinnung von Blutplasma wäre heute allerorts möglich, sie ist derzeit jedoch teilweise unbefriedigend. Dies liegt nicht nur daran, daß an vielen Orten entsprechende technische Anlagen fehlen, sondern auch an ungenügendem Hygienebewußtsein des Schlachtpersonals.

2.2.4 LEBENSMITTELRECHTLICHE VORSCHRIFTEN FÜR DIE VERARBEITUNG VON BLUTPLASMA IN FLEISCH-ERZEUGNISSEN

Nachdem die Möglichkeit zur gewerblichen Herstellung von Blutplasma geschaffen war, gab das Reichsministerium des Innern knapp ein Jahr nach dem Runderlaß vom 6.7.1937 (RMBliV. S. 1140), demzufolge "Wurstwaren, die aus Schlachttierblut mit Zusätzen von Fibrisol (Na. citricum) in Mengen bis zu etwa 100 g auf 6 Liter Blut hergestellt worden sind, ohne Kenntlichmachung in den Verkehr gebracht werden dürfen, am 28.4.1938 einen weiteren Runderlaß (RMBliV. S. 795) bekannt, in dem ergänzend klargestellt wurde, daß auch das "durch Zentrifugieren von fibrisoltem Blut gewonnene Blutplasma, Brat-, Brüh- und Kochwürstchen bis zu 10 % beigegeben werden darf". Diesem Runderlaß folgte die Verordnung über Blutplasma vom 14.9.1939 (RGBl. I S. 1774), die AO. des RMdI. vom 15.9.1939 (RMBliV. S. 1447) und der RdErL. d. RMdI. v. 15.9.1939 (RMBliV. S. 1977), in denen die Tierarten genannt sind, aus deren Blut Blutplasma hergestellt werden darf (Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen) sowie die Voraussetzungen für den Betrieb von Blutplasmagewinnungsanlagen bestimmt wurden.

Bis 1959, also über 20 Jahre nach der Erstzulassung, durfte Blutplasma in einer Menge von 10 % bei Brüh- und Kochwürsten ohne Deklaration verwendet werden. In der Fleisch-VO vom 19.12.1959 (BGBl.I S. 786) wurde Blutplasma dann als einziger "tauglicher" Tierkörperteil zuerst einmal einem Verwendungsverbot unterstellt und dann unter Deklarationszwang nur noch für Brühwürste zugelassen.

KOTTER u. TERPLAN (1960) haben dazu nach der Einführung der Deklarationspflicht folgendes ausgeführt: "Dieser Kennzeichnungszwang wurde vom fleischverarbeitenden Gewerbe als Diffamierung des Blutplasmas angesprochen. Tatsächlich ist auch schwer verständlich, daß z.B. Innereien, die sich weder im Nährwert noch im Genußwert mit dem Blutplasma messen können, und gegen die beim Verbraucher mit Sicherheit größere Aversionen bestehen als gegen Bestandteile des Blutes, bei vielen Wurstwaren ohne Deklaration zu verwenden sind, während man einen Blutplasmazusatz in Verbindung mit der Sortenbezeichnung deklarieren soll. Es ist dem Gewerbe auch unverständlich, daß dieser Blutplasmazusatz kenntlich zu machen ist, während andere Bestandteile des Blutes und das Blut selbst z.B. bei der Herstellung dunkelroter Fleischfarcen für Rouladen usw. keiner Auszeichnung bedürfen". 1967 ergänzte KOTTER die o.a. Stellungnahme: "Blutplasma darf nicht schlechter gestellt bleiben als andere Tierkörperteile, zumal es hochwertiges Eiweiß enthält. Seine Verwendung kann ebenso wie die bisher nicht reglementierte Blutserumverwendung und die Verarbeitung aller anderen Tierkörperteile völlig ausreichend über das Lebensmittelbuch geregelt werden".

Durch die VO zur Änderung der Fleisch-Verordnung vom 25.8.1969 (BGBl. I S. 1420) wurde dann festgelegt, daß bei der Deklaration nicht mehr die Begriffe "Blutplasma" und "Trockenblut" verwendet werden müssen, sondern für alle Blutplasmaformen "Bluteiweiß" genügt. KOTTER wiederholt 1977: "Blutplasma ist der einzige Tierkörperteil, der deklarationspflichtig ist. Früher war die Blutplasma- und Blutserumverwendung uneingeschränkt. Von 1937 bis 1959 durfte Blutplasma bei Brüh- und Kochwürsten nur in einer Menge von 10 % verwendet werden, aber immer noch deklarationsfrei.

Seit 1959 ist die Verwendung von Blutplasma auf Brühwürste beschränkt und deklarationspflichtig. Ich bin der Meinung, daß auch für Leberwürste, die außer Leber noch andere Innereien enthalten, Blutplasma akzeptiert werden muß. - Man sollte im Deutschen Lebensmittelbuch festlegen, daß Blutplasma nur bei solchen Brühwürsten verwendet wird, bei denen sehnenreiches Fleisch vorgesehen ist, und nur bei solchen Kochwürsten, bei denen neben Leber noch andere Innereien vorgesehen sind. Wir hätten dann gleichzeitig eine Beschränkung auf billigere Brüh- und Kochwurstsorten. Dies wäre eine verbrauchergerechte Regelung. Die Verwendung von Tierkörperteilen wird im Deutschen Lebensmittelbuch sachgerecht geregelt. In der Fleisch-VO sollte man "Blutplasma" streichen."

Durch die Fleisch-VO vom 4.7.1978 (BGBl. I S. 1003) ist dann die Deklarationspflicht für Trockenblutplasma und für Blutplasma entfallen. Deren Verwendung blieb jedoch in der VO geregelt.

Nach § 4 (1), 1 dieser VO dürfen Fleisch-Erzeugnisse, vorbehaltlich des Absatzes 2, gegenwärtig nicht in den Verkehr gebracht werden, wenn bei ihrer Herstellung Blutplasma verwendet worden ist.

In Absatz 2 wird dann ausgeführt, daß Absatz 1 des § 4 nicht für Fleisch-Erzeugnisse gilt, bei deren Herstellung in Anlage 2 aufgeführte Stoffe unter den dort genannten Voraussetzungen verwendet worden sind.

Anlage 2 beinhaltet Zusätze, die nicht kenntlich zu machen sind. Nach Nr. 4 dieser Anlage darf "Trockenblutplasma bis zu 2 vom Hundert, bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge, für die nachstehend

bezeichneten Erzeugnisse, die durch Erhitzen auf eine Kerntemperatur von mindestens 80 °C in luftdicht verschlossenen Packungen oder Behältnissen haltbar gemacht werden", zugesetzt werden:

"a) Brühwürste und brühwurstartige Erzeugnisse, einschließlich Pasteten und Rouladen nach Art der Brühwurst

b) Leberwurst, Leberpasteten, Leberparfaits, Leberpasten, Lebercremes, Wild- und Geflügelpasteten

c) tafelfertig zubereitete Fleisch-Erzeugnisse wie Gulasch, Fleischrouladen, Fleischklopse, Füllungen aus zerkleinertem Fleisch, Frikassee, Ragout fin, Schmalzfleisch, ausgenommen Kochschinken, Fleisch im eigenen Saft, Corned Beef, Corned Beef mit Gelee."

Darüber hinaus dürfen nach Nr. 5 der Anlage "Blutplasma, Blutserum und im Verhältnis 1:10 aufgelöstes Trockenblutplasma" Brühwürsten und brühwurstartigen Erzeugnissen einschließlich Pasteten und Rouladen nach Art der Brühwurst bis zu 10 vom Hundert, bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge" zugesetzt werden.

Das Durchführungsgesetz EWG-Richtlinie Frisches Fleisch - FrFlG - vom 28. Juni 1965 (BGBl. I S. 547), zuletzt geändert durch Gesetz vom 10.5.1980 (BGBl. I S. 545), enthält keine Bestimmungen über die Herstellung oder Verwendung von Blutplasma, sondern lediglich Hygienevorschriften über die Behandlung des Schlachttierblutes (z.B. Abschnitt 5 Nr. 2 und 9 FrFlG).

Blutplasma und Trockenblutplasma sind nur noch in der Einfuhruntersuchungs-VO (EinfVO vom 8.3.1961, BGBl. I S. 143, zuletzt geändert durch VO vom 27.7.1978, BGBl. I S. 1140) genannt. § 11 (1), (2) dieser VO regelt die Probenahme bei der Einfuhr von "Blut (insbesondere Trockenblut, Blutplasma, Trockenblutplasma)".

2.3 RESTBLUT IM MASCHINELL HARTSEPARIERTEM FLEISCH

Nach PSOTA, 1972; ARNETH, 1980; GOMBOCZ u. PETUELY, 1983 können Restblutgehalte in "Separatorenfleisch" Blutplasmazusätze vortäuschen.

Bei der maschinellen Gewinnung des Restfleisches werden "Hämpigmente aus dem Knochenmark freigesetzt, wodurch sich die Hämprotein-Konzentration" im Separat erhöht (FRONING, 1973). Nach ARNETH (1980) gelangen "mehr oder weniger große Mengen an rotem Knochenmark in das separierte Fleisch und dadurch in das damit hergestellte Produkt".

Um den im Verarbeitungsfleisch verbliebenen Restblutgehalt im Fleisch-Erzeugnis von einem möglichen Blutplasmazusatz differenzieren zu können, untersuchten GOMBOCZ und PETUELY (1983) mittels Immunturbidimetrie rohes Fleisch unterschiedlicher Qualität, schlecht ausgeblutetes Fleisch, "Stichfleisch" (s. 1.113 der Leitsätze des Deutschen Lebensmittelbuches), "Separatorenfleisch" mit und ohne "Markstrang", "Salzstoß", "Kopffleisch (blutreiches Fleisch)" und Innereien. In sachgerecht ausgeblutetem Fleisch wurden überwiegend Plasmaeiweißwerte von weniger als 0,05 % ermittelt. Fleisch mit z.T. sichtbaren Restblutanteilen, aber auch "unauffälliges" Fleisch hatten vereinzelt Werte bis 0,75 %. In Herzen und Milzen wurden Blutplasmagehalte von unter 0,05 % bis 0,80 % festgestellt. Daß die Farbe des Probenmaterials keinen Rückschluß auf dessen Restblutgehalt erlaubt, zeigten die Untersuchungen von "dunkelrotem" und von "unauffälligem" hartseparierten Fleisch. Beide Proben enthielten z.B.

weniger als 0,05 % Plasmaeiweiß. Als höchsten Plasmaeiweißgehalt ermittelten GOMBOCZ und PETUELY (1983) 1,0 % in "blutreich, dunkelrotem Separatorenfleisch" vom Schwein. Nach den o.a. Ergebnissen kann bei quantitativen serologischen Untersuchungen auf Blutplasma mittels Immunturbidimetrie von keinen konstanten Restblutgehalten im Fleisch oder in Fleisch-Erzeugnissen ausgegangen werden.

2.4 EXTRAKTION BESTIMMTER EIWEISSE AUS FLEISCHERZEUGNISSEN

2.4.1 EIWEISSDENATURIERUNG

Proteine können auf unterschiedliche Weise denaturiert werden, wobei zumindest ein Teil der Bindungen, welche das Molekül in seiner dreidimensionalen Gestalt zusammenhalten, aufgebrochen wird. Obwohl die Neubildung der Bindungen, von denen die Faltung abhängt, weitgehend zufällig ist, bleibt die ursprüngliche Aminosäuresequenz des umstrukturierten und somit neugestalteten Moleküls erhalten.

Für die serologische Reaktion ist bedeutsam, daß die ursprüngliche Antigen-Spezifität der Proteine durch eine mehr oder weniger starke Zerstörung der ursprünglichen antigenen Determinanten und der Bildung entsprechend neuer Anordnungen, teilweise oder vollständig verloren geht. Dementsprechend besitzt denaturiertes Protein neue spezifische Eigenschaften.

Immunologische Kreuzreaktionen denaturierter Proteine werden auf stabile Anordnungen der ursprünglichen Konfiguration zurückgeführt, die bis zu einem gewissen Grade für verschiedene Proteine gleich sein können.

Als Ursache der Denaturierung von Proteinen kommen vor allem Hitzeeinwirkungen und Behandlung mit hochkonzentrierten chemischen Lösungen (z.B. Harnstoff, Guanidin) in Betracht (KARLSON, 1966; HUMPHREY u. WHITE, 1971; HERRMANN u. KOTTER, 1972; SINELL u. MENTZ, 1975).

Zur Gewinnung spezifischer Antisera gegen Proteine aus unterschiedlich stark erhitzten Fleisch-Erzeugnissen wird das Antigen einer entsprechenden Wärmeeinwirkung ausgesetzt. So wird z.B. Milcheiweiß vor seiner Verwendung als Antigen zur Immunisierung mindestens auf Kochtemperatur erhitzt, um Kreuzreaktionen durch Inaktivierung geringster Anteile von Molkenproteinen und damit auch Spuren von Serumalbumin zu unterbinden (SINELL, 1968), und um Antikörper zu gewinnen, die mit mehr oder weniger denaturiertem Milcheiweiß in erhitzten Fleisch-Erzeugnissen reagieren.

2.4.2 EXTRAKTION

SINELL (1968) konnte in Extrakten aus Fleisch-Erzeugnissen mit Caseinzusätzen, die auf 125 °C erhitzt worden waren, serologisch mittels Präzipitation kein Casein mehr nachweisen, anders bei 115 °C und 120 °C erhitztem Untersuchungsgut. Er begründet die ausbleibende Reaktion bei auf 125 °C erhitztem Casein mit der irreversiblen Denaturierung des Caseins und seiner Abbaustufen. Um einen möglichst hohen Anteil immunologisch spezifisch wirksamer Proteine aus hitzedenaturiertem Untersuchungsmaterial zu erhalten, extrahiert SINELL (1968) mit Harnstoff, dessen Wirkung auf einer Degradation reversibel gebildeter Protein-Aggregate beruhen soll. Durch Modifikation des Lösungsmittels, der Lösungsmittelmenge, der Extraktionsdauer und der Temperatur während der Extraktion setzten ENOCH (1967), RING et al. (1983) sowie RING u. SACHER (1984) den eingeschlagenen Weg, durch neue oder veränderte Lösungsmittel auch aus erhitztem Material ausreichend serologisch spezifisch reagierende Proteine zu gewinnen, fort und erreichten bei hocherhitzten Fleisch-Erzeugnissen eine befriedigende Extraktion bestimmter Fremdeiweiß-Handelsformen, die im jeweiligen Untersuchungszeitraum angeboten wurden.

2.5 NACHWEIS VON FREMDEIWEISS IN FLEISCH-ERZEUGNISSEN

2.5.1 SEROLOGISCHE METHODEN

Die in der Lebensmittelserologie angewendeten Verfahren zum Nachweis von Fremdeiweiß-Zusätzen in rohen und erhitzten Fleisch-Erzeugnissen beruhen auf spezifischen Antigen(AG)-Antikörper(AK)-Reaktionen. Dabei kommen der Agar-Gel-Diffusion nach OUCHTERLONY (1958 und 1962) und der Immunoelektrophorese als Präzipitationsmethoden sowie der Indirekten Hämagglutination (IH) die größte Bedeutung zu.

2.5.2 PRÄZIPITATION

2.5.2.1 RINGTEST

Der Ringtest stellt die einfachste Form der Präzipitin-Reaktion dar. Er wird durchgeführt, indem man das in flüssiger Form vorliegende Antigen unter Schräghalten des Reagenzröhrchens vorsichtig über das Antiserum schichtet; sofern ein dem spezifischen Antikörper entsprechendes Antigen vorliegt, diffundieren Antigen und Antikörper gegeneinander. An der Berührungsebene der beiden Flüssigkeiten äußert sich die Reaktion durch eine weiße Präzipitatscheibe (HUMPHREY u. WHITE, 1971). DEGENKOLB u. HINGERLE (1967 und 1969) führten den Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß (aME) und von Sojaprotein in auf 115 °C erhitzten Fleisch-Erzeugnissen und von Trockenblutplasma in Roh- und Brühwürsten mittels quantitativer Präzipitatmessung. Um das Antigen im Präzipitat zu konzentrieren, sicherten sie einen Überschuß an Antikörpern. Zum quantitativen Nachweis des jeweiligen Fremdeiweißzusatzes führten sie außer der gravimetrischen Erfassung der Präzipitate auch eine Indirekte Hamägglutination durch, um im Überstand verbliebene Antikörper in die Messung einzubeziehen.

KRÜGER u. GROSSKLAUS (1970 u. 1971) wiesen Sojaprotein in erhitzten Fleisch-Erzeugnissen ebenfalls mittels Präzipitationsmessung in Anlehnung an die Methode von DEGENKOLB und HINGERLE (1967 u. 1969) quantitativ nach.

2.5.2.2 AGAR-GEL-DIFFUSION

OUDIN (1949) verwendet Agar-Gel als Reaktionsmedium, in dem Antigen und Antikörper gegeneinander diffundieren. Die einfachste Technik, bei der das Antiserum in den Agar eingebettet und danach die Antigenlösung überschichtet wird, ist wegen des alleindiffundierenden Antigens als einfache Diffusion in einer Dimension bekannt. OUCHTERLONY (1962) entwickelte diese Technik zur Doppeldiffusion in zwei Dimensionen weiter, indem er die Reaktionspartner Antigen und Antikörper aus in den Agar gestanzten Löchern gegeneinander diffundieren ließ. Diese Methode ist inzwischen in der Lebensmittelüberwachung als serologisches Routineverfahren eingeführt (LANGNER, 1972).

2.5.2.3 IMMUNOELEKTROPHORESE

GRABAR und WILLIAMS publizierten 1953 die von ihnen entwickelte Methode der Immunoelektrophorese. Sie stellt die Kombination eines physikalisch-chemischen und eines immunchemischen Untersuchungsverfahrens dar (SCHWICK et al., 1971). In der Lebensmittelüberwachungspraxis wird das in ausgestanzten Löchern im Agar befindliche Antigen (Protein) auf Grund seiner elektrophoretischen Eigenschaften in etwa 45 min aufgetrennt, wobei die Spannung zwischen den Objektträgerenden zumeist 45 Volt beträgt. Danach werden die einzelnen Proteinfraktionen der Einwirkung eines präzipitierenden Antiserums ausgesetzt. Dabei diffundieren das in eine - quer zur Richtung der aufgetrennten Proteine - in den Agar gestanzte Rinne verbrachte Antiserum und das homologe Antigen gegeneinander.

Treffen Antikörper mit homologen Antigenen zusammen, so bilden sich im Agar gut sichtbare Präzipitate (HUMPHREY u. WHITE, 1971). Je nach Konzentration des spezifischen Antiserums und der homologen Proteine werden optimale Immunpräzipitate nach 16-24 h gebildet. Infolge ihrer geringen Diffusionsgeschwindigkeit präzipitieren allerdings Makroglobuline häufig erst nach 40 h (SCHWICK et al., 1971).

SINELL u. MENTZ (1969) führten eine "serologische Spezies-Identifizierung hitzedenaturierter Muskelproteine" mittels Röhrchentest, einfacher Geldiffusion und Immunoelektrophorese durch. Bei der Differenzierung von Muskulatur, die auf 120 °C erhitzt worden war, erwies sich die Immunoelektrophorese "als bestes serologisches Verfahren".

SINELL (1968) beschreibt einen Modellversuch, in dem mittels Immunoelektrophorese bis auf 115 °C erhitztes Brühwurstmaterial auf Zusätze von 0,1; 0,25; 0,5; 1 und 2 % Milcheiweiß untersucht wurde. Dabei waren die aufgeführten Zusätze bis 0,25 % Milcheiweiß in Abstufungen deutlich zu erkennen. Auch bei einem Zusatz von 0,1 % Milcheiweiß in hocherhitzter Brühwurst war noch ein geringes Präzipitat sichtbar. Wenn auch höhere Konzentrationen als 2 % zu etwas intensiveren Präzipitatbanden führten, war die Intensität als Maß für die Konzentration nicht mehr auswertbar. Deshalb läßt sich eine "angenähert quantitative Auswertung" auch nur dann vornehmen, wenn dem Untersuchungsmaterial hinsichtlich Herstellung und Zusammensetzung weitgehend entsprechendes Vergleichsmaterial verfügbar ist. Bei Untersuchungen von Brühwürsten, die auf 125 °C erhitzt worden waren, auf Milcheiweiß-Zusätze, war "praktisch kein Präzipitat mehr sichtbar" und somit der Zustand weitgehend irreversibler Denaturierung des Caseins und seiner Abbaustufen erreicht (SINELL, 1968; KLUGE-WILM, 1967). HERRMANN u. KOTTER (1968) prüften die Immunoelektrophorese auch auf ihre Eignung zum Nachweis von Trockenblutplasma.

Bei nicht erhitztem Untersuchungsmaterial konnten Konzentrationen ab 0,1 % erfaßt werden, bei auf 70/75 °C erhitztem Material ab 0,5 %. Eine quantitative Differenzierung zwischen den unterschiedlichen Trockenblutplasma-Konzentrationen war jedoch nicht möglich. In Untersuchungsmaterial, das 30 min auf 100 °C erhitzt worden war, konnten Trockenblutplasma-Konzentrationen erst ab 1,8 % nachgewiesen werden.

ENOCH (1967) hält den qualitativen Nachweis von Trockenblutplasma mittels Immunoelektrohphorese nur bei Untersuchungsmaterial für möglich, das nicht höher als 75 °C erhitzt worden ist, ein semiquantitativer Nachweis sei auf Grund des nicht eindeutig zu differenzierenden Präzipitationsbildes nicht zu führen.

2.5.2.4 INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)

Im Gegensatz zur direkten Hämagglutination, bei der Erythrozyten durch direkte Einwirkung eines mikrobiellen Antigens verklumpt werden, wirken bei der Indirekten Hämagglutination Antikörper auf Erythrozyten, an die homologe Antigene adsorbiert worden sind (HERRMANN u. KOTTER, 1968). Diese Erythrozyten fungieren sozusagen als "Mittler" für die Antigen- und Antikörper-Reaktion (SCHMIDT, 1955).

KEOGH, NORTH u. WARBURTCN (1947) beobachteten, daß Antigene von Haemophilus influenza von Erythrozyten adsorbiert werden können (Sensibilisierung) und bei Zugabe des homologen Antiserums agglutinieren.

Durch die Aufrauhung der Erythrozytenoberfläche mit Tannin gelang es BOYDEN (1951), Erythrozyten auch mit Proteinantigen zu sensibilisieren. In der Lebensmittelüberwachung werden i.d.R. Hammelbluterythrozyten als Indikator verwendet. Nach WAGENSTALLER (1972) sowie HERRMANN, MERKLE u. KOTTER (1973) können aber auch von Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern und Mäusen brauchbare Erythrozyten für eine Routineuntersuchung gewonnen werden. Zur Durchführung der Indirekten Hämagglutination wird das im Untersuchungsmaterial vermutete Antigen an formalinisierte und mit Tannin behandelte Hammelerythrozyten adsorbiert (BOYDEN, 1951; HERRMANN, 1973). Diese "sensibilisierten" Erythrozyten werden in konstanter Menge einer geometrischen Verdünnungsreihe des zugehörigen Antiserums zugesetzt. Die Erythrozyten agglutinieren dabei bis zu einer bestimmten Antiserumverdünnung (Antititer). Das Antiserum für eine zweite Verdünnungsreihe inkubiert man vor der geometrischen

Verdünnung mit dem Extrakt aus dem Untersuchungsmaterial. Ist das im Untersuchungsmaterial vermutete Antigen tatsächlich vorhanden, so ist die Menge des Fremdeiweißgehaltes im Untersuchungsmaterial am Abschwächungsgrad des Agglutinationstiters (der sog. Hämagglutinationshemmung) gegenüber den Kontrollen (Antititer) abzulesen. Je höher der Gehalt an Fremdeiweiß, um so stärker ist die Agglutinationshemmung, d.h. die Abschwächung gegenüber dem Antiserumtiter.

In der Lebensmittelüberwachung setzt eine sachgerechte Auswertung einen Serumtiter von mindestens 16.000 voraus (HERRMANN u. KOTTER, 1969).

Nach STAVITZKY (1954) ist diese Methode zehnmal empfindlicher und spezifischer als die Präzipitation. ENOCH (1967) konnte in auf 110 °C erhitzten Fleisch-Erzeugnissen unterschiedliche Trockenblutplasmakonzentrationen eindeutig differenzieren.

KOTTER, HERRMANN u. CORSICO (1966) sowie HERRMANN u. KOTTER (1968) erfassen aME mittels Indirekter Hämagglutination auch in hocherhitzten Fleisch-Erzeugnissen (115 °C) quantitativ in Konzentrationen ab 0,1 %.

KLUGE-WILM (1967) konnte die Ergebnisse von KOTTER, HERRMANN u. CORSICO (1966) und HERRMANN (1965) im Rahmen eines Vergleichs von Immunelektrophorese und Indirekter Hämagglutination nicht bestätigen. Zusätze von aME in Höhe von 0,25 % bis 4 % zu Fleisch-Erzeugnissen, konnten mittels Indirekter Hämagglutination nicht ermittelt werden. Solche Zusätze führten zu regellosen Titerabschwächungen, die in keinem Zusammenhang mit dem tatsächlichen Milcheiweißzusatz standen.

DEGENKOLB u. HINGERLE (1969) bestätigten auf Grund eigener Untersuchungen die Ergebnisse von KLUGE-WILM (1967) und halten darüber hinaus die Indirekte Hämagglutination in der Lebensmittelüberwachung für zu aufwendig.

HERRMANN et al. (1975), sowie RING u. SACHER (1984) kamen zu gleichen Ergebnissen wie in vorausgegangenen Untersuchungen und geben Fehlerquellen bei der Durchführung der Indirekten Hämagglutination sowie Möglichkeiten zu deren Verhinderung an.

Während der Agar-Gel-Diffusionstest wie alle Präzipitationsmethoden in seiner Empfindlichkeit durch die kleinste gerade noch sichtbare Präzipitationsmenge begrenzt wird, führt in der Indirekten Hämagglutination ein Immunserum, das im Agar-Gel-Test bei der Verdünnung 1:10 eine gerade noch erkennbare Präzipitationsreaktion hervorruft, selbst 1000fach verdünnt noch zur deutlich sichtbaren Agglutination von sensibilisierten Erythrozyten (HERRMANN u. KOTTER, 1972; HERRMANN et al., 1975).

2.6 NICHT-SEROLOGISCHE METHODEN

Fremdeiweiße werden in Fleisch-Erzeugnissen auch histologisch (MIERMEISTER, 1942), chemisch (HENDREY, 1939; THALER, 1942; THALACKER in: GERHARDT u. KAUPER , 1979) und physikalisch-chemisch (KAISER et al., 1981; RING u. WEIGERT, 1982) nachgewiesen (WITTMANN et al., 1968). Zuverlässige quantitative Aussagen über Fremdeiweißgehalte in Fleisch-Erzeugnissen sind auf diesen Wegen allerdings nicht möglich. So wurden mittels THALACKER-Methode in Gewürzen für Fleisch-Erzeugnisse chemisch scheinbare Gehalte von aufgeschlossenem Milcheiweiß (aME) zwischen 0,7 % (z.B. Pfeffer, Paprika) und 5,5 % (z.B. Senfmehl, Majoran) gefunden (GERHARDT u. KAUPER, 1979).

ROLLE (1961) erfaßte Zusätze von Milcheiweiß, Hühnereiweiß und Blutplasma in Fleisch-Erzeugnissen summarisch durch die chemische Bestimmung des Glucosamingehaltes nach der modifizierten ELSON-MORGAN-Methode. Dabei wird Glucosamin durch Acetylaceton in N-Acetylhexamin übergeführt, das unter Wasserabgabe einen Ringäther bildet. Dieser kondensiert mit p-Dimethylaminobenzaldehyd zu einem rotvioletten Farbkomplex, der colorimterisch bestimmt wird. Die Methode muß mit einer Bindegewebseiweißbestimmung kombiniert werden, da Bindegewebseiweiß viel Glucosamin enthält. Eine Differenzierung von Milcheiweiß gegenüber Hühnereiweiß und Blutplasma wurde durch eine zusätzliche Bestimmung von Oxylysin, das in Blutplasma und Hühnereiweiß, nicht aber im Milcheiweiß vorkommt, durchgeführt.(WITTMANN et al., 1968)

GRAU und FRIES (1962) beschreiben Versuche, mittels Pentabromacetonmethode den Natriumcitratgehalt des Blutplasmas in Brühwürsten zu ermitteln. Die derart ermittelten Werte ließen zwar realistische Rückschlüsse auf die Gesamtmenge solcher Zusätze in Brühwürsten zu, gaben jedoch bei unbekanntem Material keinen Hinweis, ob der gefundene Natriumcitratwert auf einen Zusatz von Trockenblutplasma oder auf andere Natriumcitratzusätze zurückzuführen war. (WITTMANN et al., 1968)

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL

3.1.1 CHEMIKALIEN

Extraktionslösungen:

I. Veronalpuffer, pH 8,6

20,6 g Na-5,5-Diethylbarbiturat

4,0 g 5,5-Diethylbarbitursäure

0,2 g Na-azid

ad 1000 ml Aqua dest.

II. 6 M Harnstoff-Lösung

+ 1 % 2-Mercaptoethanol

+ 1 % Guanidiniumchlorid

Reaktionsmedien:

1,2 % Instant-Agar-MD-reinst von SERVA,
pH 7,4 für 100 ml

1,0 g Agar Noble Difco in 100 ml Veronalpuffer,
pH 8,6 gelöst

3.1.2 ANTIGENE

Im Rahmen der Untersuchungen wurde im Handel erhältliches Trockenblutplasmapulver sowie maschinell hartseparierter Fleisch aus fleischverarbeitenden Betrieben ("Separatorenfleisch") verwendet. Als Kontrolle wurde eine 2 %ige Trockenblutplasma-Lösung (Extrakt A_1) verwendet.

3.1.2.1 MODELLWÜRSTE

Im folgenden werden die Rezepturen der Modellwürste beschrieben.

3.1.2.1.1 ROHWURST

Es wurden jeweils 4 Chargen hergestellt. Die nach der Grundrezeptur als Kontrolle (Extrakt A_2) hergestellten Rohwürste waren zusatzfrei. Einer Charge (Extrakt A_3) wurden, bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge, 2 % handelsübliches Trockenblutplasma zugesetzt. Bei der dritten (Extrakt A_4) und vierten Charge (Extrakt A_5) wurden 10 % des Muskelfleischanteils durch Fleisch aus der Hartseparation ersetzt, der vierten Charge zusätzlich 2 % Trockenblutplasma zugefügt.

Die Grundrezeptur der Modellrohwürste hatte folgende Zusammensetzung:

Rohwurst nach Art der Salami

1/3 Rindfleisch

1/3 Schweinefleisch

1/3 Speck

Bezogen auf 1 kg Fleisch- und Speckmenge wurden 2 g Zucker, 4 g Pfeffer und 2 g Salz zugesetzt.

3.1.2.1.2 BRÜHWURST

Auch hier wurden jeweils 4 Chargen hergestellt. Die als Kontrolle (Extrakt A_2) hergestellte Brühwurst war zusatzfrei. Der zweiten Charge (Extrakt A_3) wurden, bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge, 2 % handelsübliches Trockenblutblasma zugesetzt.

Jeweils bei der dritten (Extrakt A_4) und vierten Charge (Extrakt A_5) wurden 10 % des Muskelfleischanteils durch maschinell hartsepariertes Fleisch ersetzt, der vierten Charge aber noch zusätzlich 2 % Trockenblutplasma zugefügt.

Die Grundrezeptur der Brühwurst hatte folgende Zusammensetzung:

50 % Rindfleisch

25 % Speck

25 % Eis

Bezogen auf die Fleisch-Fett-Menge wurden 2,0 % Nitritpökelsalz und 0,3 % Diphosphat und bezogen auf das Gesamtbrät 0,05 % Na-Ascorbat, 0,5 % Kristallpur und 0,4 % einer Gewürzmischung zugesetzt.

3.1.2.1.3 HANDELSWARE

Zur Überprüfung der praxisüblichen Verfahren wurden zusätzlich noch aus dem Handel unterschiedliche Rohwürste erworben. Es wurden unterschiedliche Servelat- und Salamiarten untersucht, deren Materialzusammensetzung nicht bekannt war.

3.1.2.1.4 BLUTPLASMA

Das Antigen (Blutplasma) wurde mit steriler pNaCl im Ultra-Turrax im Verhältnis 1:10 gemischt. Anschließend wurde diese Lösung 30 min lang bei 70 °C im Schüttelwasserbad erhitzt und danach mit 1 n NaOH versetzt und mit 1 n HCl auf pH 7,0-7,2 eingestellt. Dann wurde die Lösung nochmals 15 min bei 70 °C im Wasserbad gehalten. Nachdem durch den Zusatz von Metallsalzgemischen als Adjuvans zum Antigen nach der Verabreichung enorme Antikörpersteigerungen erzielt werden konnten (RING, 1974), wurde die 10 %ige Trockenblutplasmalösung für die Immunisierung in einer 1,5 %igen Aluminiumhydroxydsuspension aufgeschwemmt.

3.1.3 IMMUNISIERUNG UND SERUMGEWINNUNG

Kaninchen mit einem Gewicht von 3-4 kg wurden im Abstand von 2 Tagen ca. 4 ml Antigen in Höhe der Querfortsätze der Lendenwirbelsäule (paralumbal) subcutan injiziert (HERRMANN et al., 1966). Nach der 7. Injektion erfolgte eine erste Titerbestimmung mittels Indirekter Hämagglutination oder Agar-Gel-Test. Man immunisiert die Kaninchen 15mal und prüft dann wieder das Serum durch Titerbestimmung. Bei unbefriedigendem Antikörpertiter lohnt sich ein weiteres Immunisieren nicht, da diese Seren später unspezifisch reagieren. Dagegen wurden die Tiere mit hohem Antikörpertiter ca. 5 Tage nach der letzten Immunisierung entblutet.

Danach wurde das Serum bei 2000 U/min abzentrifugiert, in Ampullen abgefüllt, bei mindestens -50 ^{o}C eingefroren und anschließend lyophilisiert.

3.1.4 BESCHICHTEN DER OBJEKTTRÄGER

Instant-Agar-MD-reinst von SERVA, pH 7,4 wurde 1,2 %ig in Aqua dest. im Dampftopf gelöst. Anschließend wurden mit dem auf 60 °C abgekühlten Agar Objektträger beschichtet, die zuvor schon mit einer 0,2 %igen Agarlösung in Form eines Haftagars bedeckt worden waren. Die so aufgetragene Agarschicht war bei 10 ml Agar für drei Objektträger gleichmäßig ca. 1,3 mm stark. Nach dem Erstarren der Gelschicht wurden die beschichteten Objektträger über Nacht in der feuchten Kammer bei 4 °C aufbewahrt.

3.1.5 STANZEN DER BASSINS UND EINFÜLLEN DER REAGENTEN

Sechs Bassins wurden rosettenartig um ein Zentralbassin mit einer Stanze der Fa. SCHMIDT (Berlin) ausgestanzt. Die in einer geometrischen Reihe verdünnten Untersuchungsextrakte (Antigen) wurden in die sechs Bassins, das unverdünnte Antiserum in das Zentralbassin eingefüllt. Die Reaktionen wurden je nach Molekülgröße der aufeinander zu diffundierenden Eiweiße 24 bis 72 h nach Ansetzen (bei Raumtemperatur) ausgewertet.

3.1.6 KONSERVIERUNG UND SENSIBILISIERUNG DER ERYTHROZYTEN

Die Erythrozyten wurden dreimal mit pNaCl gewaschen. Eine 8 %ige Erythrozytensuspension wurde mit gleichem Volumenanteil 3 %iger Formalinlösung gemischt und 18 bis 20 h bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurde das Gemisch viermal mit pNaCl gewaschen.

Mit gepufferter NaCl (pH 7,2) wurden die gewaschenen, formalinisierten Erythrozyten zu einer 3,3 %igen Zellsuspension verdünnt und mit gleichen Volumenteilen einer 1:40.000 verdünnten Tanninlösung versetzt. Diese Erythrozytenaufschwemmung wurde 30 min bei 37 °C inkubiert, zentrifugiert und das Zentrifugat zweimal mit gepufferter NaCl (pH 6,4) gewaschen. Zur Sensibilisierung wurde das letzte Zentrifugat mit gepufferter NaCl (pH 6,4) auf eine 3,3 %ige Zellsuspension verdünnt, mit gleichen Volumenteilen einer entsprechenden 0,0025 %igen Lösung aus Trockenblutplasma versetzt und im Magnetrührer 2 h bei 37 °C im Brutschrank wieder inkubiert. Nach dem Inkubieren wurden die Erythrozyten abzentrifugiert und zwei- bis dreimal mit pNaCl ausgewaschen.

3.2 METHODEN

3.2.1 EXTRAKTION

Jeweils 20 g der Roh- (3.1.2.1.1) bzw. Brühwurstchargen (3.1.2.1.2) wurden in einer Moulinette grob zerkleinert. Rohwurst wurde im Verhältnis 1:2 mit Extraktionslösung I (3.1.1) oder - zum Vergleich - mit Extraktionslösung II (3.1.1) gemischt und 24 h bei Kühlschranktemperatur extrahiert. Bei Brühwurst wurde jeweils das Verhältnis 1:1 gewählt. Der gewonnene Extrakt wurde anschließend 10 min bei 3000 U/min abzentrifugiert und der Überstand - durch Gaze filtriert - als Antigen verwendet.

Neben der o.a. Vorgehensweise wurde Brühwurst-Probenmaterial auch tiefgefroren im Mixer zerkleinert. Um eine Verklumpung des Untersuchungsgutes durch geschmolzenes Fett und damit eine Verkleinerung der für den Extraktionsvorgang wichtigen Oberfläche zu verhindern, wurde das Material nach kurzem Vorschneiden auf Reiskorngröße noch einmal tiefgefroren und danach bis zur Pulverform zerkleinert. Die jeweils nur kurzdauernde, stufenweise Zerkleinerung des tiefgefrorenen Untersuchungsgutes beugte auch einer zusätzlichen Denaturierung des Proteins durch zu hohe Erwärmung vor (RING u. SACHER, 1984). Danach wurde das Untersuchungsgut im Verhältnis 1:1 mit dem jeweiligen Extraktionsmittel (s.o.) versetzt und für 1 h bei 40 ^{o}C in ein Schüttelwasserbad gestellt. Der Extrakt wurde wiederum 10 min bei 3000 U/min abzentrifugiert und der Überstand als Antigen verwendet.

3.2.2 AGAR-GEL-DIFFUSION

Der schon im Literaturteil (2.5.2.2) genauer beschriebene Agar-Gel-Test wird in der Praxis meist nur als Screening-Test eingesetzt. Es war zu prüfen, bis zu welcher Verdünnungsstufe der Eigenblutanteil reagiert, weil ein quantitatives Nachweisverfahren wie die Indirekte Hämagglutination unter Praxisgegebenheiten erst dann benötigt wird, wenn der Agar-Gel-Test über eine bestimmte Verdünnungsstufe hinaus reagiert hat.

3.2.2.1 AUSWERTUNG

Die Auswertung der Reaktion erfolgt nach 24 h, 48 h und 72 h durch Beurteilung der Präzipitationsbandenbildung zwischen den aufeinander zu diffundierenden Antigenverdünnungen in den Randlöchern und dem Antikörper im Zentralbassin. Je mehr die Verdünnungsstufen reagieren, umso höher ist der Fremdeiweißgehalt im Untersuchungsgut.

3.2.3 INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)

3.2.3.1 AUSFÜHRUNG DES TESTS

Die Gewinnung des Antiserums (Antikörpers) (3.1.3), die Herstellung der sensibilisierten Erythrozyten (3.1.6) sowie die Gewinnung des Antigens (Untersuchungsextraktes) werden, wie beschrieben, durchgeführt.

Lyophilisiertes Antiserum wird in Aqua dest. im Verhältnis 1:1 aufgelöst. In Hämagglutinationsröhrchen (100 x 9 mm), die in 2 Reihen (pro Reihe 30 Röhrchen) in einem Ständer mit Glasbodenplatte stehen, werden jeweils 0,5 ml pNaCl-Lösung vorgelegt. Zur Serumkontrolle (Serumtiter) wird in das erste Röhrchen der 1. Reihe 0,5 ml Antiserum zugegeben und durch Überpipettieren von jeweils 0,5 ml geometrisch verdünnt. In der 2. Reihe werden 0,5 ml des mit dem Untersuchungsextrakt (Fleisch-Erzeugnis mit z.B. 2 % zugesetztem Bluteiweiß) inkubierten Antiserums ebenfalls geometrisch verdünnt. In weiteren Reihen werden Antiseren mit Untersuchungsextrakten aus den Roh- (3.1.2.1.1) und Brühwurstchargen (3.1.2.1.2) inkubiert, denen lediglich "Separatorenfleisch", oder "Separatorenfleisch" und 2 % Blutplasma zugesetzt worden waren. Jeder Verdünnung werden dann zwei Tropfen (1 ml-Pipette) sensibilisierter Hammelerythrozyten zugegeben und die Ständer nach leichtem Aufschütteln der Röhrchen 1 h bei 37 ^{o}C im Brutschrank und anschließend über Nacht bei 4 ^{o}C im Kühlschrank aufbewahrt.

3.2.3.2 AUSWERTUNG DES TESTS

Die Auswertung der Reaktion erfolgt nach 24 h durch Beurteilung der Erythrozytensedimente (-agglutinate) am Boden der Röhrchen. In einem um 45 ^{o} geneigten Spiegel unter dem Glasboden des Ständers ist die Reaktion gut ablesbar. Als eindeutig positiv (+++) werden Agglutinate beurteilt, die sich teppichartig über den ganzen Röhrchenboden ausgebreitet hatten. Agglutinate, die am Röhrchenboden weniger ausgebreitet vorliegen, werden abnehmend positiv (++, +) beurteilt bis zum Befund "keine Reaktion" (-), bei dem die Erythrozyten wegen der ausbleibenden Agglutination am Röhrchenboden punktartig sedimentiert sind.

Die quantitative Bestimmung von Blutplasmazusätzen basiert auf der Erkenntnis, daß die spezifischen Antikörper in Abhängigkeit von der Menge des im Untersuchungsextrakt enthaltenen Blutplasmas daran gehindert werden, mit entsprechend sensibilisierten Erythrozyten zu agglutinieren.

3.4 VORVERSUCHE

Modellrohwürste (3.1.2.1.1) werden zum Nachweis von Blutplasmazusätzen 15 min auf 72 °C Kerntemperatur erhitzt oder tiefgefroren, um Behandlungsverfahren, die zwar selten angewandt, dessen ungeachtet in der Gastronomie aber praxisüblich sein können, zu simulieren.

So wird Salami z.B. auf einer entsprechend tiefgefrorenen Pizza vor dem Verzehr einer vergleichbaren (72 °C) und mitunter sogar höheren Erhitzung ausgesetzt. Es sollte geklärt werden, ob und wie differenziert ein quantitativer Blutplasmanachweis in derart vorbehandelten Fleisch-Erzeugnissen möglich ist. Wegen der starken Austrocknung infolge der Temperatureinwirkung (72 °C) mußte das Untersuchungsgut im Verhältnis 1:3 bis 1:5 extrahiert werden.

3.4.1 ERGEBNISSE

3.4.1.1 AGAR-GEL-TEST

Die Ergebnisse der mit Extraktionslösung I (3.1.1) inkubierten tiefgefrorenen Rohwurst (3.1.2.1.1) sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Die Kontrollrohwurst (Extrakt A_2) und die mit 10 % "Separatorenfleisch" hergestellte Wurst (Extrakt A_4) zeigen übereinstimmende Untersuchungsergebnisse. Die Charge mit Zusatz von 2 % Blutplasma (Extrakt A_3) entspricht bei eindeutig positiver Reaktion bis zur Verdünnung 1:64 dem Probenmaterial mit kombiniertem Zusatz von "Separatorenfleisch" und Blutplasma (Extrakt A_5).

Die mit der Extraktionslösung II (3.1.1) behandelten tiefgefrorenen Wurstchargen zeigen (Tabelle 2) nur bis zur Verdünnung 1:8 eine eindeutig positive Reaktion des Eigenblutanteils der Kontrollwurst (Extrakt A_2).

Tabelle 3 (Extraktionslösung I) und 4 (Extraktionslösung II) zeigen die Untersuchungsergebnisse der auf 72 °C erhitzten Rohwürste. Das aufgrund der o.a. Gründe (3.4) bis zur Verdünnung 1:5 extrahierte erhitzte Probenmaterial zeigt keine einheitlichen Untersuchungsergebnisse. Dabei erscheint lediglich das mit der Extraktionslösung II (3.1.1) erzielte Ergebnis brauchbar, nach dem der Zusatz von 2 % Blutplasma in 72 °C erhitzter Rohwurst bis zur Verdünnung 1:64 zu einer eindeutig positiven Reaktion führt.

3.4.1.2 INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION

Aus Tabelle 9 (Extraktionslösung II) und Tabelle 10 (Extraktionslösung I) wird deutlich, welche Bedeutung einem wirkungsvollen Extraktionsmittel für den Nachweis von Blutplasma aus tiefgefrorenen Rohwürsten (3.1.2.1.1) zukommt. Die Untersuchung wurde mittels Indirekter Hämagglutination durchgeführt. Der Serumtiter betrug 2^{24}. Lösung II (3.1.1) erwies sich als weitgehend wirkungslos. So zeigten die vier Chargen Rohwurst mit z.T. unterschiedlichen Gehalten an Blutplasma keine Unterschiede in der Titerabschwächung. Lösung I (3.1.1) (Tab. 10) erwies sich demgegenüber als wirkungsvoller. 10 %iger Zusatz von "Separatorenfleisch" zu Rohwurst (Extrakt A_4) führte gegenüber der Kontrollcharge (Extrakt A_2) zu keiner höheren Titerabschwächung. Andere Ergebnisse zeigen die Rohwürste mit (Extrakt A_5) und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakt A_3) und einem Zusatz von 2 % Blutplasma, das eine Titerabschwächung um jeweils 5 Verdünnungsstufen bewirkte.

Die Erhitzung der einzelnen Modellrohwürste auf 72 °C führte offenbar zu einer bereits so weitgehenden Denaturierung des Untersuchungsgutes, daß es selbst bei einem Serumtiter von 2^{21} zu keiner bzw. keiner befriedigenden Titerabschwächung in der Indirekten Hämagglutination kam. Im Vergleich zu dem tiefgefrorenen Rohwurstmaterial erwies sich nach der Erhitzung der Modellrohwürste die Lösung II (Tab. 12) der fast wirkungslosen Extraktionslösung I (Tab. 11) als leicht überlegen. Der Zusatz von 2 % Blutplasma (Extrakt A_3) führte in der Indirekten Hämagglutination zu einer nicht immer eindeutigen Titerabschwächung von zwei Stufen.

3.5 VERSUCHE

3.5.1 AGAR-GEL-DIFFUSION (OUCHTERLONY)

3.5.1.1 ROHWURST

Die Ergebnisse des Blutplasmanachweises in den einzelnen Modellrohwürsten (3.1.2.1.1) mittels Agar-Gel-Diffusion, denen jeweils 120 Ansätze zugrunde liegen, werden in den Tabellen 5 (Lösung II) und 6 (Lösung I) wiedergegeben.

Zur Untersuchung der Modellrohwürste (3.1.2.1.1) mittels Agar-Gel-Diffusion auf Blutplasma wurde Antiserum mit einem Titer von 2^{16} verwendet. Trockenblutplasmapulver, 2 %ig in pNaCl gelöst, diente als Kontrolle (Extrakt A_1). Rohwürste mit und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakte A_2 und A_4) reagierten, unabhängig von dem verwendeten Extraktionsmittel, mit dem o.a. Antiserum eindeutig im Agar-Gel-Test bis zur Verdünnung 1:8. Rohwürste mit (Extrakt A_5) und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakt A_3) und einem jeweiligen Zusatz von 2 % Blutplasma führten nach Extraktion mittels Lösung I im Agar-Gel-Test bis zur Verdünnung 1:64 zu eindeutigen Reaktionen.

Extraktionsmittel II (3.1.1) erwies sich als weniger wirksam. Ein 2 %iger Blutplasmazusatz (Extrakt A_3) führte zu einer eindeutigen Reaktion lediglich bis zur Verdünnung 1:32.

3.5.1.2 BRÜHWURST

Die Ergebnisse dieser Testreihe, der 100 Ansätze zugrunde liegen, sind aus den Tabellen 7 (Extraktionslösung II) und 8 (Extraktionslösung I) ersichtlich.

Die Untersuchungen der Modellbrühwürste (3.1.2.1.2) auf ihren Blutplasmagehalt mittels Agar-Gel-Diffusion führten lediglich bei Verwendung der Extraktionslösung I (3.1.1) zu befriedigenden Ergebnissen.

Brühwürste mit und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakte A_2 und A_4) reagierten nach der Extraktion mit Lösungsmittel I und dem modifizierten Extraktionsverfahren (3.2) eindeutig bis zur Verdünnung 1:4. Der Zusatz von jeweils 2 % Blutplasma (Extrakte A_3 und A_5) führte zu einer deutlichen Reaktion bis zur Verdünnung 1:16.

3.5.1.3 HANDELSWARE

Einheitlich konnte bei dieser Versuchsreihe mit dem Agar-Gel-Test als Screening-Test die Frage beantwortet werden, daß der reine Eigenblutanteil generell bis zur Verdünnung 1:16 zu eindeutig positiven Reaktionen führte. Aus diesem Grund wurde auf eine gesonderte Tabelle verzichtet.

3.5.2 INDIREKTE HÄMAGGLUTINATION (IH)

3.5.2.1 ROHWURST

Die Ergebnisse dieser Testreihe, denen 100 Ansätze zugrunde liegen, werden in den Tabellen 13 (Extraktionslösung I) (3.1.1) und 14 (Extraktionslösung II) (3.1.1) wiedergegeben.

Die Untersuchungen der Modellrohwürste (3.1.2.1.1) auf ihren Gehalt an Blutplasma mittels Indirekter Hämagglutination führten bei Verwendung der Extraktionslösung I (Tab. 13) gegenüber Extraktionslösung II (Tab. 14) zu eindeutig besseren Ergebnissen. Der Antiserumtiter betrug 2^{16}. Rohwürste mit und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakte A_2 und A_4) führten zu einer Titerabschwächung von 6 Verdünnungsstufen gegenüber dem Antiserumtiter. Der Zusatz von jeweils 2 % Blutplasma (Extrakte A_3 und A_5) führte gegenüber den o.a. Wurstextrakten A_2 und A_4 zu einer Abschwächung um weitere 7 Verdünnungsstufen.

3.5.2.2 BRÜHWURST

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe mittels Indirekter Hämagglutination, der 100 Ansätze zugrunde liegen, sind aus den Tabellen 15 bis 18 ersichtlich.

In dieser Versuchsreihe wurde zusätzlich geprüft, ob wiederholtes Einfrieren (3.2.1) im Rahmen der Homogenisierung des Materials zu günstigeren Extraktionsergebnissen führt. Aus Tabelle 15 und 17 (Lösung I) (3.1.1) sowie 16 und 18 (Lösung II) ist ersichtlich, daß für den Nachweis von Blutplasma in Brühwürsten die Extraktionslösung II durch ihre bessere Extraktionsfähigkeit in Betracht kommt. Das wiederholte Einfrieren des Untersuchungsgutes (Tab. 18) erbrachte wegen der ohnehin schonenden Homogenisierung nicht die erwartete Verbesserung des Extraktionsergebnisses, wie aus den Ergebnissen von Tabelle 16 ersichtlich ist.

Brühwürste (3.1.2.1.2) mit und ohne "Separatorenfleisch" (Extrakte A_2 und A_4) reagierten gegenüber dem Antiserumtiter mit der gleichen Titerabschwächung von 7 Verdünnungsstufen. Demgegenüber führte das Untersuchungsmaterial aus der Brühwurst mit (Extrakt A_5) und ohne "Separatorenfleisch"-Zusatz (Extrakt A_3) und einem jeweiligen Zusatz von 2 % Blutplasma gegenüber den Kontrollen zu einer Titerabschwächung um 3 Verdünnungsstufen. Der Serumtiter betrug jeweils 2^{17}.

4 DISKUSSION

Im Gegensatz zur Agar-Gel-Diffusion (nach OUCHTERLONY, 1962) ist die Indirekte Hämagglutination als Nachweisverfahren für Fremdeiweiß umstritten. DEGENKOLB u. HINGERLE (1967 u. 1969) halten diese Methode für unzuverlässig und für zu aufwendig, KLUGE-WILM (1967) rügt regellose Titerabschwächungen, die in keinem Zusammenhang mit dem tatsächlichen Fremdeiweißzusatz stehen. Diese Aussagen waren in eigenen Untersuchungen nicht zu bestätigen; die Indirekte Hämagglutination erwies sich bei sachgerechter Durchführung als zuverlässiges Verfahren für den quantitativen Nachweis von Bluteiweiß in nativem und erhitztem Material. Zu gleichen Feststellungen waren KOTTER et al. (1966), ENOCH (1967), RING u. ROIDER (1983) sowie RING u. SACHER (1984) gekommen.

Unstrittig ist auch, daß die Indirekte Hämagglutination weitaus spezifischer und empfindlicher reagiert als Präzipitationsmethoden (STAVITZKY, 1957; HUMPHREY u. WHITE, 1971). Ohne Zweifel ist für die Durchführung dieser Methoden ein höherer Aufwand erforderlich als für weniger empfindliche Verfahren wie z.B. Agar-Gel-Test oder Immunelektrophorese. Im Vergleich zu dem zwischenzeitlich routinemäßig durchgeführten Radioimmuno-Assay (Bundesgesundheitsbl. 1983) und dem Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay (ELISA) (WARDLEY u. CROWTHER, 1982) ist der Aufwand für die hinsichtlich des Nachweises und der Differenzierung von Eiweißen gleichwertige Indirekte Hämagglutination relativ gering, wobei die weitaus höheren Kosten des Radioimmun- und des Enzym-Immun-Tests außer Betracht

bleiben sollen. Für den quantitativen Nachweis bestimmter Proteine in hocherhitzten Fleisch-Erzeugnissen ist die Indirekte Hämagglutination allen anderen serologischen Verfahren gegenwärtig noch überlegen (RING u. SACHER, 1984).

ENOCH (1967) extrahierte Blutplasma mittels pNaCl-Lösung und beschrieb wiederholt unbefriedigende Ergebnisse, die auf eine mangelhafte Wirkung des Lösungsmittels schließen lassen. In Vorversuchen wurden deshalb unterschiedliche, in der Literatur beschriebene (ENOCH, 1967; RING u. ROIDER 1983; RING u. SACHER, 1984) Lösungsmittel für Fremdeiweißzusätze zu Fleisch-Erzeugnissen sowie unterschiedliche Extraktionsmittelzusätze geprüft. Darüber hinaus wurden auch Einflüsse von Extraktionsdauer und -temperatur untersucht.

Zusätze von Mercaptoethanol, Harnstoff (RING u. SACHER, 1984), Guanidiniumchlorid oder Natriumdodecylsulfat (SDS) (RING et al., 1983) zu bisher verwendeten Lösungsmitteln führten auch in eigenen Versuchen zu deutlicher Verbesserung der Extraktionswirkung bei erhitzten Fleisch-Erzeugnissen. Optimale Extraktionswirkung wurde durch eine Lösung aus 6 M Harnstoff mit Zusatz von 1 % Mercaptoethanol und 1 % Guanidiniumchlorid (RING et al., 1983; ROIDER, 1984), die dem Probenmaterial im Verhältnis 1:1 zugesetzt wurde, erzielt. Bei Rohwürsten (3.1.2.1.1) wurde an Stelle der von ENOCH (1967) benutzten pNaCl-Lösung als Extraktionsmittel Veronal-Puffer, pH 8,6, (SINELL, 1968) verwendet.

Der Agar-Gel-Diffusionstest (OUCHTERLONY, 1962) und die weitaus aufwendigere Indirekte Hämagglutination erwiesen sich von Anfang an als zuverlässige Unter-

suchungsverfahren, so daß der Grenznutzen jedes zusätzlichen Ansatzes äußerst gering war. Wenn den Untersuchungsergebnissen trotzdem jeweils mehr als 100 Ansätze zugrunde liegen, sollten damit auch unter Simulation von Praxisverhältnissen hinreichend abgesicherte Werte ermittelt werden.

Besondere Bedeutung kam der Frage zu, ob Fleisch z.B. von Stichstellen oder aus Knochennähe, oder bestimmte innere Organe beachtlich höhere Blut- und damit Plasmaeiweißgehalte als andere Teile des Tierkörpers aufweisen. Rötliche Verfärbungen des Fleisches weisen dieses als "blutreich" aus (PSOTA, 1972; FRONING, 1973; ARNETH, 1980; GOMBOCZ u. PETUELY, 1983).

GOMBOCZ und PETUELY (1983) zeigten jedoch in einer mittels Immunturbidimetrie durchgeführten Untersuchung an Schweineorganen, daß der prozentuale Gehalt an Blutplasma in einem blutreichen Organ wie Milz, unter 0,05, im Gehirn mit einem vergleichsweise geringeren Blutgehalt aber bei einem Wert von 0,12 lag. Andererseits schwankten die ermittelten Werte bei unterschiedlichen Tieren auch innerhalb des gleichen Organs. So wurden in Schweinenieren unter 0,05, aber auch 0,80 % Blutplasmaeiweiß nachgewiesen. Ähnliche Unterschiede wurden bei Rinder- und Kälber-Herzen ermittelt, hier schwankten die Werte zwischen 0,05 und 0,40 %. Daß die Farbe eines Schlachttierteiles keine Rückschlüsse auf den Restblutgehalt zuläßt, zeigten die gleichen Autoren auch noch durch die Untersuchung von "Separatorenfleisch". Während in "Separatorenfleisch" vom Rind mit "unauffälliger" Farbe z.B. 0,20 % Blutplasma nachgewiesen wurden, wurden bei maschinell gewonnenem dunkelrotem "Separatorenfleisch" nur 0,05 und 0,10 % Plasmaeiweiß er-

mittelt. Auch in eigenen Untersuchungen führte der Zusatz von "Separatorenfleisch" zu Modellwürsten in keinem Fall zu höheren Blutplasmawerten. Die Untersuchungen von GOMBOCZ und PETUELY (1983) zeigten aber, daß die Restblutgehalte von Schlachttier zu Schlachttier sowie von Teilstück zu Teilstück - vermutlich in Abhängigkeit von der Art der Schlachtung (PSOTA, 1972) - stark variieren können. Die in wenigen Fällen bei den eigenen Versuchen (< 10 %) nachgewiesene deutlichere Bandenbildung im Agar-Gel-Test und die eindeutigere Ablagerung von sensibilisierten agglutinierten Hammelerythrozyten in der Indirekten Hämagglutination könnten als Hinweis für die Verarbeitung von plasmareichem Ausgangsmaterial gewertet werden. Diese Vermutung wurde aber durch die Ergebnisse der überwiegenden Zahl der Versuche nicht weiter gefestigt. Offenbar erfolgt bei der Herstellung von Fleisch-Erzeugnissen eine so starke Vermischung von Teilstücken unterschiedlichen Blutgehaltes des gleichen, wie auch unterschiedlicher Schlachttiere, daß sich einzelne bluthaltige Teile nicht mehr auf das Ergebnis des Blutplasmanachweises in Fleisch-Erzeugnissen auswirken.

Der durchschnittliche Wert des Eigenblutanteils im Verarbeitungsmaterial konnte durch Kontrolluntersuchungen von im Handel wahllos erworbenen handelsüblichen Rohwürsten nach Art Salami (3.1.2.1.3) beantwortet werden. Die Untersuchung dieser Würste mittels Agar-Gel-Test führte wie bei den Kontrollwürsten eigener Fertigung bis zur Verdünnung 1:16 zu eindeutig positiver Reaktion.

Der Zusatz von 2 % Blutplasma führte bei der Rohwurstcharge (3.1.2.1.1) im Agar-Gel-Test zu einer um drei Stufen höheren Bandenbildung und in der Indi-

rekten Hämagglutination zu einer Abschwächung um sieben Verdünnungsstufen gegenüber den Kontrollen mit einem Titer von 65.000. Extrakte aus Brühwürsten (3.1.3.2) mit einem Zusatz von 2 % Blutplasma zeigten im Agar-Gel-Test gegenüber den Kontrollen eine um nur eine Verdünnungsstufe höhere, allerdings deutliche Bandenbildung und in der Indirekten Hämagglutination eine deutliche Abschwächung um drei Verdünnungsstufen.

ENOCH (1967) konnte bei Untersuchungen von Fleisch-Erzeugnissen auf Trockenblutplasma zwischen den Kontrollen und Zusätzen von 2 % nicht (Rohmaterial) bzw. nicht eindeutig (Brühwurst) differenzieren. So wurde im Agar-Gel-Test eine weniger deutliche und bis zu einem geringeren Verdünnungsgrad diffundierende Bandenbildung registriert. In der Indirekten Hämagglutination wurden selbst bei einem gegenüber dem Eigenblutanteil der Kontrollen zweifach erhöhten Serumtiter, keine so deutlichen Abschwächungen wie bei den eigenen Untersuchungen festgestellt. Schon die Abschwächung gegenüber dem Serumtiter war bei Rohwurst um 7 und bei Brühwürsten um 6 Verdünnungsstufen geringer. Die eindeutigeren Ergebnisse sind auf verbesserte Sensibilisierung der Hammelerythrozyten (RING u. SACHER, 1984) und vor allem auf das wirksamere Extraktionsmittel zurückzuführen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

a) Das Eiweiß des Blutplasmas ist in der ernährungsphysiologischen Wertigkeit dem bindegewebseiweißfreien Fleischeiweiß ebenbürtig. Wegen seiner günstigen Aminosäurebilanz ist dieses Eiweiß höher zu bewerten als das Eiweiß von Würsten aus Fleisch mit normalem Bindegewebseiweißgehalt.

b) Bei der Gewinnung von Blutplasma sollten hygienische Aspekte noch stärker berücksichtigt werden.

c) Die Mitverwendung von maschinell hartseparierten Fleisch führte zu keinen höheren Blutplasmagehalten.

d) Die Agar-Gel-Diffusion nach OUCHTERLONY ist ein brauchbarer Screening-Test. Die Indirekte Hämagglutination eignet sich auch bei hocherhitzten Fleisch-Erzeugnissen besser für den quantitativen Nachweis von Blutplasma als alle anderen serologischen Verfahren.

e) Zur Extraktion von Trockenblutplasma aus Rohwürsten erwies sich Veronal-Puffer, zur Extraktion aus Brühwürsten 6 M Harnstoff mit Zusatz von 1 % Mercaptoethanol und 1 % Guanidiumchlorid als vorteilhaft.

f) Der Zusatz von 2 % Trockenblutplasma zu Rohwürsten führt im Agar-Gel-Test (OUCHTERLONY) zu eindeutig positiver Reaktion bis zur Verdünnung 1:64, bei Brühwürsten hat ein solcher Zusatz eine Bandenbildung bis zur Verdünnung 1:16 zur Folge.

g) Der Zusatz von 2 % Trockenblutplasma zu Roh- und Brühwürsten führt bei der Indirekten Hämagglutination in den Verdünnungsreihen (gegenüber den Kontrollansätzen) zu Abschwächungen um 7 bzw. 3 Agglutinationsröhrchen.

6 SUMMARY

Quantitative serological detection of original and added blood plasma protein in fermented sausages and Brühwurst sausages.

a) The nutritional value of blood plasma protein is equal to that of meat protein free from non-meat protein. On account of its favourable balance of aminoacids the blood plasma protein is of a higher value than the protein of sausages with normal content of non-meat protein.

b) The hygienic aspects during the manufacture of blood plasma have to be considered to a greater extent.

c) No higher blood plasma concentrations could be found in sausages from mechanically deboned meat than in control sausages.

d) The agar-gel-diffusion-test according to OUCHTERLONY is a useful screening-test for the detection of blood plasma protein; the passive haemagglutination technique is superior to all serological methods especially in the case of meat products heated up to more than 100 ^{o}C.

e) Veronal buffer was advantageous for the extraction of dried blood plasma from fermented sausages whereas 6 M urea with 1 % mercaptoethanol and 1 % guanidinium chloride was the optimal extractant for Brühwurst sausages (frankfurter-type sausages).

f) The addition of 2 % dried blood plasma yields a positive reaction in the agar-gel-diffusion-test up to dilutions of 1:64 (fermented sausages) and 1:16 (Brühwurst sausages) respectively.

g) In the passive haemagglutination technique the addition of 2 % dried blood plasma results in a reduction of 7 (fermented sausages) and 3 tubes (Brühwurst sausages) respectively compared to the controls.

Tabelle 1: Tiefgefrorene Rohwurst mit Extraktionslösung I inkubiert

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	++	±	±	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	-	-	-

Zeichenerklärung:

Extrakt A_1 = Extrakt aus einer 2 %igen Trockenblutplasmapulver-Lösung

Extrakt A_2 = Extrakt aus der Rohwurst ohne Zusatz

Extrakt A_3 = Extrakt aus der Rohwurst mit 2 % Trockenblutplasma-Zusatz

Extrakt A_4 = Extrakt aus der Rohwurst mit 10 % "Separatorenfleisch"-Zusatz

Extrakt A_5 = Extrakt aus der Rohwurst mit 2 % Trockenblutplasma und 10 % "Separatorenfleisch"-Zusatz

Tabelle 2: Tiefgefrorene Rohwurst mit Extraktionslösung II inkubiert

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 1!

Tabelle 3: 15 min auf 72 °C erhitzte Rohwurst, mit Lösung I extrahiert

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 1!

Tabelle 4: 15 min auf 72 °C erhitzte Rohwurst, mit Lösung II extrahiert

Ansatz	Antigen-Verdünnung									
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	-	-	-
Extrakt A_4	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 1!

Tabelle 5: Rohwurst extrahiert mit Lösung II

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	±	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	±	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 1!

Tabelle 6: Rohwurst extrahiert mit Lösung I

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	++	±	±	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	±	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	++	±	±	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 1!

Tabelle 7: Brühwurst extrahiert mit Lösung II

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	±	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	±	±	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung:

Extrakt A_1 = Extrakt aus einer 2 %igen Trockenblutplasmapulver-Lösung

Extrakt A_2 = Extrakt aus der Brühwurst ohne Zusatz

Extrakt A_3 = Extrakt aus der Brühwurst mit 2 % Trockenblutplasma-Zusatz

Extrakt A_4 = Extrakt aus der Brühwurst mit 10 % "Separatorenfleisch"-Zusatz

Extrakt A_5 = Extrakt aus der Brühwurst mit 2 % Trockenblutplasma- und 10 % "Separatorenfleisch"-Zusatz

Tabelle 8: Brühwurst extrahiert mit Lösung I

Ansatz	Antigen-Verdünnung 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Extrakt A_1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	++	±	±	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	++	±	±	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tabelle 7 !

Tabelle 9: Tiefgefrorene Rohwurst mit Extraktionslösung II inkubiert

	Antigen-Verdünnung																	
	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	261824	500000	1Mio	2^{21}	2^{22}	2^{23}	2^{24}	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1!

Tabelle 10: Tiefgefrorene Rohwurst mit Extraktionslösung I inkubiert

	Antigen-Verdünnung																	
	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	261824	500000	1Mio	2^{21}	2^{22}	2^{23}	2^{24}	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1!

Tabelle 11: 15 min auf 72 °C erhitzte Rohwurst, mit Extraktionslösung I inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	261824	500000	1Mio	2^{21}	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1

Tabelle 12: 15 min auf 72 °C erhitzte Rohwurst, mit Extraktionslösung II inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	261824	500000	1Mio	2^{21}	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1

Tabelle 13: Rohwurst mit Extraktionslösung I inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1!

Tabelle 14: Rohwurst mit Extraktionslösung II inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 1!

Tabelle 15: Brühwurst mit Extraktionslösung I inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 7!

Tabelle 16: Brühwurst mit Extraktionslösung II inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 7!

Tabelle 17: Brühwurst, nach modifiziertem Extraktionsverfahren mit Lösung I inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 7!

Tabelle 18 Brühwurst, nach modifiziertem Extraktionsverfahren mit Lösung II inkubiert

	Antigen-Verdünnung																
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16364	32728	65456	130912	
Titer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
Extrakt A_1	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Extrakt A_3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Extrakt A_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Extrakt A_5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: siehe Tab. 7!

LITERATURVERZEICHNIS

ANGULO, A.: Vergleichende Untersuchungen über den Keimgehalt des Schlachtblutes bei im Liegen und im Hängen geschlachteten Kälbern.
Diss.med.vet., Gießen 1956;

ANNUSS, H.: Abfallbeseitigung und Seuchenbekämpfung in Schlachtbetrieben.
Internat.Umweltkongreß, Paris, 1978, 110;

ARNETH, W., H. LINKE und H. HECHT: Fleischseparatoren aus analytischer Sicht.
Kurzfassung der Dachvorträge.
Kulmbacher Woche 1974;

ARNETH, W.: "Trennung von Fleisch und Knochen".
ref.: nach FIELD, R., J. KUNSMAN u. L. SANCHEZ.
25. Europ.Fleischforscher-Kongreß, Budapest 1980
Fleischwirtschaft 60 (1980), 1204;

BACHSTEIN, E.: Blutplasma und Dickblut.
Gewinnung und Verarbeitung nach dem Fibrisol-Verfahren.
Schriften der Dt. Fleischer-Ztg. Heft 5, 2. Aufl.
Verlag Hans Holzmann, Berlin 1968;

BELITZ, H.D., und J. SCHORMÜLLER: Aminosäuren, Peptide. In: Handbuch der Lebensmittelchemie, Schormüller, J., Bd. I Die Bestandteile der Lebensmittel

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1965, 235;

BEM, Z., und L. LEISTNER: Fleischseparatoren aus mikrobiologischer Sicht. Kurzfassung der Fachvorträge.

Kulmbacher Woche 1974;

BOROWSKY, D.: Bakteriologische Stufenuntersuchungen in der Blutplasmagewinnungsanlage eines Großbetriebes.

Diss.med.vet., Berlin 1981;

BOYDEN, S.V.: The absortion of proteins on erythrozytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.

J.Exper.Med. 93 (1951), 107;

BREER, C.: Die hygienische Gewinnung und Verwertung von Plasma in der Fleischwarenherstellung.

Fleischwirtschaft 58 (1978), 795;

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT und FORSTEN (BMELF);

statistischer Monatsbericht, 1983 Heft 2;

CIRONEANU, J., G. DANIEL und D. DRAGULICI: Gewinnung und Verwertung des Blutplasmas in der Fleischindustrie.

Die Fleischerei 25 (1974), H. 6, S. 46;

DEGENKOLB, E., und M. HINGERLE: Untersuchung über den serologischen Nachweis von Fremdeiweißzusätzen in hitzedenaturierten Fleischerzeugnissen.

Arch. Lebensmittelhyg. 18 (1967), 241;

DEGENKOLB, E., und M. HINGERLE: Eine serologische Schnellmethode zum quantitativen Nachweis von Fremdeiweißzusätzen in hitzedenaturierten Fleischerzeugnissen.

Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 73;

DICKEL, H.: Pers. Mitteilung 1978 zitiert nach BOROWSKY, D.: Bakteriologische Stufenuntersuchung in der Blutplasmagewinnungsanlage eines Großschlachtbetriebes.

Diss.med.vet., Berlin 1981, 24;

DREPPER, G., und K. DREPPER: Verfahren zur Herstellung neuer Eiweißprodukte aus Schlachttierblut für Nahrungsmittel.

Fleischwirtschaft 61 (1981), 30;

DÜPJOHANN, J.: Ein Verfahren zur Verwertung von Schlachttierblut unter besonderer Berücksichtigung der Plasmagewinnung.

Fleischwirtschaft 56 (1976), 54;

ENOCH, Ch.: Zur biologischen Differenzierung von Trockenblutplasma in hocherhitzten Fleischwaren.

Diss.med.vet., München 1967;

FEIST, H.: Spezifischer Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß in Fleischerzeugnissen mittels Polyacrylamidgel-Elektrophorese.

Diss.med.vet., München 1975;

FLEISCHAUER, G., G. HERMANN und B. GEBAUER: Vergleichende Untersuchungen über Blutplasma.

Z.Fleisch- und Milchhyg. 51 (1940), 29;

FLEISCHMANN, O.: Nachweis von Sojaprotein in Fleischprodukten.

Fleischwirtschaft 46 (1966), 172;

FRONING, G.W., and F. JOHNSON: Improving the quality of mechanically deboned fowlmeat by centrifugation.

J.Food Sci. 39 (1973), 279;

GERHARDT, U., und R. KAUPER: Vergleichende Untersuchungen über den scheinbaren Milcheiweißgehalt in Gewürzen nach der THALACKER-Methode.

Fleischwirtschaft 59 (1979), 97;

GOMBOCZ, E., und F. PETUELY: Nachweis und Bestimmung von Rinder- und Schweine-Blutplasma in Fleischwaren mittels Immunturbidimetrie.

D. Lebensm. Rdsch. 79 (1983), 137;

GORBATOV, V.M.: The Utilization of blood and other slaughter by products.

22. Europ. Fleischforscher-Kongreß, Malmö 1976 Kongreß-Dokumantation II, 10, 1-5;

GRÄTZ, H.: Blutplasma-Gewinnungsanlage.
Fleischwirtschaft 61 (1981), 1460;

GRAU, R., und A. FRIES: Versuche zur Bestimmung von Trockenblutplasma und flüssigem Blutplasma in Brühwürsten.
Fleischwirtschaft 14 (1962), 78;

GRAU, R.: Chemische Zusammensetzung, Bluteiweiße
In: Schormüller, J.: Handbuch der Lebensmittel-Chemie, Bd. III/ 2. Teil,
Tierische Lebensmittel.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1965, 1035;

GRAU, R.: Fleisch und Fleischwaren.
2. Auflage
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1969, 73;

GRÜTTNER, F.: Taschenbuch der Fleischwarenherstellung einschl. Konservierung.
Verlag Dr. Serger und Hempel, Braunschweig 1932, 337;

GRÜTTNER, F., und H. SCHWERDT: Taschenbuch der Fleischwarenherstellung.
4. Auflage
Verlag Dr. Serger und Hempel, Braunschweig 1953, 159;

GÜNTHER, E.: Untersuchungen des mikrobiologischen Zustandes von Tierblut.
Diplomarbeit, Universität Hohenheim 1982;

HANSELMANN, F.: Funktionsbeschreibung einer modernen Blutplasma-Anlage.

Fa. BEMEG, Hamburg, persönliche Mitteilung 1982;

HEINZ, G.: Die geschlossene Entblutung von Schlachttieren und die Verwendbarkeit von geschlossen gewonnenem Blut zu Blutplasma.

Fleischwirtschaft 49 (1969), 613;

HEINZ, G.: Blutverwertung.

Fleischwirtschaft 50 (1970), 562;

HEINZ, G.: Eine neuartige Anlage zur geschlossenen Entblutung von Schweinen im Bandbetrieb.

Fleischwirtschaft 52 (1972), 437;

HELLMANNSBERGER, L.: Routinenachweis von Fremdeiweißen in erhitzten Fleisch-Erzeugnissen mittels Polyacrylamid-Gel-(Disk-)Elektrophorese.

Diss.med.vet., München 1981;

HENDREY, W.B.: Determination of soybean flour in sausage by nonfermentable sugars.

Industr. Engng. Chem. Analyt. Edit. 11 (1939), 611;

HEPP, L.: Konservierung von Blutplasma.

Diss.med.vet., Berlin 1940;

HERRMANN, Chr.: Über den Nachweis von hitzedenaturiertem Hühnereiklar in Fleischwaren mit Hilfe der indirekten Hämagglutination.

Diss.med.vet., München 1963;

HERRMANN, Chr.: Über die zugleich quantitative Differenzierung von erhitztem Eiweiß mittels der indirekten Hämagglutination.

Berl.Münch. Tierärztl. Wschr. 78 (1965), 370;

HERRMANN, Chr., D. HOLPERT und G. PFEIFFER: Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß in Fleischwaren mit Hilfe fluorescierender Antikörper.

Arch. Lebensmittelhyg. 17 (1966), 12;

HERMANN, Chr., und L. KOTTER: Die Indirekte Hämagglutination als Nachweisreaktion für Fremdeiweiße.

Arch. Lebensmittelhyg. 19 (1968), 267;

HERRMANN, Chr.: Serologische Untersuchungsmethoden in der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung.

Wehrmed. 7 (1969), 16;

HERRMANN, Chr., und L. KOTTER: Methoden zum Nachweis von Fremdeiweiß nach serologischen Verfahren.

Fleischwirtschaft 49 (1969), 1175;

HERRMANN, Chr., und Ch. MERKLE: Zur Standardisierung und Konservierung der sensibilisierten Hammelerythrozyten für die Indirekte Hämagglutination zum Nachweis von Fremdeiweiß.

Arch. Lebensmittelhyg. 22 (1971), 189;

HERRMANN, Chr., und L. KOTTER: Serologische Differenzierung einer 4000 Jahre alten Fleischprobe mittels Präzipitation.

Berl.Münch.Tierärztl. Wschr. 85 (1972), 11;

HERRMANN, Chr., Ch. MERKLE und L. KOTTER: Zur Problematik serologischer Nachweisreaktionen für Fremdeiweiße in erhitzten Fleisch-Erzeugnissen. 1. Mitt.: Präzipitationsreaktionen.

Fleischwirtschaft 53 (1973), 97;

HERRMANN, Chr., Ch. MERKLE und L. KOTTER: Zur Problematik serologischer Nachweisreaktionen für Fremdeiweiße in erhitzten Fleisch-Erzeugnissen. 2. Mitt.: Agglutinationsreaktionen.

Fleischwirtschaft 53 (1973), 249;

HERRMANN, Chr.: Nachweis von Blutplasma.

Fleischwirtschaft 53 (1973), 305;

HERRMANN, Chr., H. den HARTOG und H. THOMA: Wie sicher ist der serologische Nachweis von Fremdeiweißen in Fleischerzeugnissen?

Fleischwirtschaft 55 (1975), 808;

HOOG P. de, S., van den REEK und F. BROUWER: Nachweis und Bestimmung von aufgeschlossenem Milcheiweiß und Sojaprotein in Fleischerzeugnissen.

Fleischwirtschaft 50 (1970), 1665;

HUMPHREY, J.H., und R.G. WHITE: Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
3. Auflage,
Thieme Verlag, Stuttgart 1971, 141;

JOHANNSEN, R.: Technologie von Hart- und Weichseparatoren.
Fleischwirtschaft 59 (1979), 1106;

KAISER, K.-P., G. MATHEIS, D. SCHWEIGER-RECKNAGEL und H.-D. BELITZ: Differenzierung pflanzlicher und tierischer Proteine durch isoelektrische Focussierung in Agarosegel.
Z. Lebensm.Unters.-Forsch. 173 (1981), 468;

KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
5. Auflage
Thieme Verlag, Stuttgart 1966, 98;

KELLER, H.: Zur Lösung des Problems der restlosen Verwertung des Schlachtblutes als menschliches Lebensmittel.
Tierärztl.Rdsch. 44 (1938), 339;

KEOGH, E.V., E.A. NORTH and M.F. WARBURTON: Hemagglutinines of the Hemophilus group.
Nature 160 (1947), 63;

KLUGE-WILM, R.: Serologischer Nachweis von Milcheiweiß in hocherhitzten Fleischwaren.

Diss.med.vet., Berlin 1967;

KOTTER, L., und G. TERPLAN: Zur Gewinnung und Verarbeitung von Blutplasma.

Mh.Vet.Med. 15 (1960), 429;

KOTTER, L., und B. ROLLE: Aminosäuren und Aminozucker als Kriterien bei der Beurteilung von Fleischwaren.

Wiener Tierärztl.Mschr. 48 (1961), 372;

KOTTER, L., Chr. HERRMANN und G. CORSICO: Zum quantitativen Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß in hocherhitzten Fleischerzeugnissen mit Hilfe der Indirekten Hämagglutination.

Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 133 (1966), 15;

KOTTER, L., A. PALITZSCH und Chr. HERRMANN: Technologische Bedeutung von Fremdeiweiß bei der Fleischverarbeitung.

Arch.Lebensmittelhyg. 19 (1968), 261;

KOTTER, L., A. PALITZSCH und A. FISCHER: Weitere Studien über die Vorgänge bei der Herstellung von "Brühwurst" und die Wirkung verschiedener Hilfsstoffe.

Fleischwirtschaft 49 (1969), 1623;

KOTTER, L., und G. KRAUSSE: Anregungen für die Änderung der Fleisch-Verordnung.

Fleischwirtschaft 57 (1977), 1569;

KOTTER, L., und G. SEUFERT: Gutachten über die Verwendung von Blutplasma und Blutserum bei der Fleischwarenherstellung.

Fleischwirtschaft 57 (1977), 1578;

KOTTER, L., und H. SCHMIDT: Zuordnung von Blutplasma zur Zutat "Fleisch" bei vorverpackter Brühwurst.

Fleischwirtschaft 63 (1983), 844;

KOTTER, L.: Pers. Mitteilung, München 1984;

KRÜCKEN, F.J.: Beitrag zur Frage einer hygienischen Blutgewinnung.

Diss.med.vet., Gießen 1967;

KRÜGER, H., und D. GROSSKLAUS: Untersuchungen zum serologischen Nachweis von Sojaprotein in erhitzten Fleischerzeugnissen.
I. Probleme der Antiserumherstellung.
II. Untersuchungen mit Hilfe der Indirekten Hämagglutination und der Immunelektrophorese.
III. Untersuchung mit Hilfe der Quantitativen Präzipitatmessung.

Fleischwirtschaft 50 (1970), 1529; 51 (1971), 181 und 315;

LANGNER, H.J.: Eine Apparatur für die "Micro-Slide Immundiffusion".

Fleischwirtschaft 52 (1972), 61;

LENZ, K.: Schlachtblutverwertung.

Vorratspflege und Lebensmittelforschung 1939, 74;

LERCHE, M.: Restlose Verwertung des Schlachttierblutes zur Lebensmittelherstellung.

Tierärztl.Rdsch. 44 (1938), 338;

LERCHE, M.: Konservierungsversuche von Blut, Blutplasma und Blutkörperchen mit Ammoniak.

Tierärztl.Rdsch. 47 (1941), 527;

LINKE, H.: Fleischseparatoren aus lebensmittelrechtlicher Sicht.
Kurzfassung der Fachvorträge
Kulmbacher Woche 1974;

LINKE, H.: Herstellung von Blutplasma.

Fleischwirtschaft 61 (1981), 11;

LURCH, C.-H.: Persönliche Mitteilung, Bonn 1982;

METTLER, M.: Neue Möglichkeiten der Gewinnung und Verarbeitung von Schlachtblut.

Fleischwirtschaft 55 (1975), 1680;

MEYER, R.: Gewichtsfeststellungen und Gewichtsverhältnisse der bei der Ausschlachtung von Rindern und Kälbern anfallenden Organe und Körperteile.

Diss.med.vet., Berlin 1923;

MIERMEISTER, A.: Nachweis und Bestimmung von Sojamehl in Wurstwaren.

Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 84 (1942), 392;

NIESS und HORNUNG: Die Blutplasmagewinnungsanlage in Berlin, Lübeck und Spandau.

Dt. Schlachthofztg. 40 (1940), 213, 228;

N.N. Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen (LMBG) vom 15. August 1974, Bundesgesetzbl. I, S. 1946; i.d.F. von 24.8.1976 (BGBl. I, S. 2445, 2481) Verlag C.H. Beck, München;

N.N. Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik Deutschland, Internationale Übersichten aus den Jg. 1972 bis 1982.

Verlag W. Kohlhammer, Mainz 1983;

N.N. Stilbenderivate Diäthylstilbestrol, Hexöstrol und Dienöstrol in Urin, Galle, Fäzes und Geweben von Mastkälbern und Bullen (RIA)

Bundesgesundheitsbl. 26 (1983), Sonderheft XVII;

N.N. Zusatz von Natrium Citricum zum Schlachttierblut.

RMBLiV. S. 1140 vom 6.7.1937;

N.N. Herstellung von Wurst unter Verwendung von Blutplasma.

RMBLiV. S. 795 vom 28.4.1938;

N.N. Verordnung über Blutplasma.

RGBl. I S. 1774 vom 14.9.1939;

N.N. Anforderungen an die Einrichtung und Richtlinien für den Betrieb von Blutplasmagewinnungsanlagen.

RMBLiV. S. 1447 vom 15.9.1939;

N.N. Herstellung von Blutplasma.

RMBLiV. S. 1977 vom 15.9.1939;

N.N. Fleisch-VO.

BGBl. I S. 786 vom 19.12.1959;

N.N. Änderung der Fleisch-VO.

BGBl. I S. 1420 vom 25.8.1969;

N.N. Fleisch-VO.

BGBl. I S. 1003 vom 4.7.1978;

N.N. Einfuhruntersuchungs-VO.

EinfVO vom 8.3.1961
BGBl. I S. 143; i.d.F. BGBl. I S. 143
vom 27.7.1978;

N.N. Durchführungsgesetz EWG-Richtlinie Frisches Fleisch

-FrFLG, BGBl. I S. 547 vom 28.6.1965; i.d.F. vom 10.5.1980 (BGBl. I S. 545);

OUCHTERLONY, Ö.: Diffusions in gel-methods for immunological analysis. I.

Progr.Allergy 5 (1958), 1;

OUCHTERLONY, Ö.: Diffusions in gel-methods for immunological analysis. II.

Progr.Allergy 6 (1962), 36;

OUDIN, J.: La diffusion d'un antigène dans une colonne de gel contenant les anticorps prècipitants homologues.

C.R.Acad.Sci 228 (1949), 1890;

PALITZSCH, A., und H. SCHULZE: Zur Änderung der Fleisch-VO.

SVZ 70 (1970), 16;

POTTHAST, K.: Referat über: Fleisch, Blut, Schlachtnebenprodukte und pflanzliche Proteine unter besonderer Berücksichtigung technologischer Aspekte. 24. Europ. Fleischforscher-Kongreß, Kulmbach

Fleischwirtschaft 58 (1978), 1944;

PSOTA, A., und M. CONSTANTPOULOU: Nachweis von Blutplasma mit Hilfe der Immundiffusionsmethode.
Fleischwirtschaft 52 (1972), 1290;

RATTENBERGER, E., W. GEDEK und P. MATZKE: Radioimmunologische Bestimmung von Äthinylöstradiol im Plasma, Harn und Kot von Kälbern.
Arch.Lebensmittelhyg. 34 (1983), 48;

RING, Ch.: Vermehrte Bildung von Antikörpern gegen erhitztes Eiweiß mittels Metallverbindungen.
Diss.med.vet., München 1964;

RING, Ch., P. WEIGERT und L. HELLMANNSBERGER: Zur Differenzierung von Eiweiß pflanzlichen und tierischen Ursprungs mittels Disk-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese.
Fleischwirtschaft 62 (1982), 648;

RING, Ch., R. ROIDER und H. SCHMIDT: Zur Extraktion von Fremdeiweißen aus Fleisch-Erzeugnissen.
29. Europ. Fleischforscher-Kongreß, Salsamaggiore (Parma) 1983, Proceedings, II f. 10;

RING, Ch., und V. DAUM: Zum serologischen Nachweis von originär vorhandenen und zugesetztem "Blutplasma" in Fleisch-Erzeugnissen.
24. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes, "Lebensmittelhygiene" der DVG Garmisch 1983;

RING, Ch., und F. SACHER: Quantitativer Nachweis von Sojaproteinen in Brühwurst.

Fleischwirtschaft 64 (1984), 355;

ROLLE, M., und M. MAYR: Infektions- und Seuchenlehre 4. Auflage,

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1978;

ROIDER, E.: Zur Extraktion von Sojaprotein und aufgeschlossenem Milcheiweiß aus erhitzten Fleisch-Erzeugnissen.

Diss.med-vet. München 1984;

SCHÄLLIBAUM, R.: Blutplasma-Gewinnungsanlage

SVZ 57 (1977), 301;

SCHIEBEL, K.: Beitrag zur Frage der Gewinnung, Untersuchung und Beurteilung des "Blutplasmas".

Dt. Schlachthofztg. 39 (1939), 181;

SCHMIDT, H.: Fortschritte der Serologie 2. Auflage,

Verlag Steinkopff, Darmstadt 1955, 364 und 744;

SCHNITTER, B.: Das Blut als Nebenwert in der Fleischerei.

Schriften des Handwerks, Heft 11,
Handwerker-Verlagshaus
H. Holzmann,
Bad Wörishofen 1952;

SCHWERDT, H.: Neue und erfolgreiche Wege zur Verwertung von Schlachttierblut für die Volksernährung.

Z.Fleisch- u. Milchhyg. 48 (1938), 421;

SCHWICK, H.G., K. STÖRIKO und W. BECKER: Qualitative Plasmaprotein-Bestimmung durch Immunpräzipitation.

Laboratoriumsblätter für die med. Diagnostik 1971 (Nr. 3), Behringwerke;

SINELL, H.J.: Verarbeitung von Hühnereiweiß in Brühwurst.

Berl.Münch.Tierärztl. Wschr. 75 (1962), 48;

SINELL, H.J.: Probleme bei der Spezies-Identifizierung von Proteinen in Lebensmitteln.

Arch. Lebensmittelhyg. 19 (1968), 121;

SINELL, H.J., und I. MENTZ: Serologische Spezies-Identifizierung hitzedenaturierter Muskelproteine mittels Harnstoffextraktion.

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 82 (1969), 55;

SINELL, H.J., und I. MENTZ: Mikrotiter-Hämagglutinationshemmung zum Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß in Fleischerzeugnissen.

Wien.Tierärztl.Mschr. 60 (1973), 79;

SINELL, H.J., und I. MENTZ: Zum quantitativen Nachweis von aufgeschlossenem Milcheiweiß mittels Elektroimmunodiffusion.

Arch. Lebensmittelhyg. 26 (1975), 41;

SMIRNIZKAJA, N.E., L.K. SJIRINA, L.P. ORTSCHINNIKOWA und W.I. FILIMINOVA:

Die Verwendung von Schlachttierblut als Eiweißzusatz bei der Herstellung von Fleischwaren.

Fleischwirtschaft 54 (1974), 789;

SPECK, J.: Plenora-Werke, Hamburg, persönliche Mitteilung 1982;

STAVITZKY, A.B.: Micromethods for the study of proteins and antibodys.
1. Procedure and general application of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reactions with tannic acid and protein treated red blood cells.

J. Immunol. 72 (1954), 360, 368;

STERLING, O.: Fleischgewinnung und Fleischverarbeitung.
Bd. I.: Die Fleischgewinnung

Holzmann Verlag, Bad Wörishofen 1965, 72;

STOHRER, R.: Entwicklung der Technik des Blutentzuges und der Hygiene der Blutgewinnung.

Dt. Schlachthofztg. 37 (1937), 2, 17, 33;

SÜDFLEISCH GMBH: Blutplasma, tiefgefroren - ein Volltreffer für Ihren Geldbeutel.

8700 Würzburg, Otto-Hahnstr. 3, 1983;

TÄNDLER, K.: "Hartseparatorenfleisch" und "Weichseparatorenfleisch": Vorschriften und Empfehlungen für Herstellung und Verarbeitung.

Fleischwirtschaft 58 (1978), 535;

TÄNDLER, K., und A. STIEBING: Zur Verwendung von Blut, Blutplasma und Blutserum als Nahrungsmittel.

SVZ 79 (1979), 214;

THALER, H., und A. MALZER: Zur Bestimmung der Rohfaser nach K. Scharrer.

Z. Lebensm.Unters.Forsch. 83 (1942), 141;

UCHMANN, W., W. CHALCARZ und W. PEZACKI: Die Vorverarbeitung von Schlachttierblut zur menschlichen Ernährung.

Fleischwirtschaft 60 (1980), 273;

UCHMANN, W., W. CHALCARZ und W. PEZACKI: Blutkonservierung.

Fleischwirtschaft 60 (1980), 1625;

WAGENSTALLER, G.-Ch.: Nachweis von Sojaprotein in hocherhitzten Fleischerzeugnissen mit Hilfe der standardisierten indirekten Hämagglutination.

Diss.med.vet., München 1972;

WARDLEY, R.C., and J.R. CROWTHER: The Elisa enzyme-linked immunosorbat assay in veterinary research and diagnosis.

Martinus Nijhoff Publishers,
The Hague, Boston, London 1982;

WENTZIN, H.: Fa. BEMEG, Hamburg:
persönliche Mitteilung, 1983;

WIRTH, F.: Zusätze bei der Brühwurst-Fabrikation.

Fleischwirtschaft 54 (1974), 13;

WISMER-PEDERSEN, J.: Untersuchungen über die Ausnützung von Schlachttierblut bei der Herstellung von Fleischprodukten.

Fleischwirtschaft 60 (1980), 231;

WISMER-PEDERSEN, J.: Vollausnützung von Schlachttierblut bei der Herstellung von Fleischprodukten.

Fleischwirtschaft 60 (1980), 987;

WITTMANN, J., L. KOTTER und H. SCHMIDT: Nachweis von Fremdeiweiß in Fleischerzeugnissen mittels nichtserologischer Methoden.

Arch.Lebensmittelhyg. 19 (1968), 272;

WITTMANN, M.: Zur maschinellen Trennung von Fleisch und Knochen.

Fleischwirtschaft 57 (1977), 1135, 1261;

WYLER, O.D.: Routineuntersuchungsmethoden für Fleisch und Fleischwaren.

Fleischwirtschaft 51 (1971), 1743;

WYWRYKOWSKI, H.: Fleischpreise 1982, pers. Mitteilung aus: Statistisches Amt der Landeshauptstadt München

Fachserie 17, Reihe 1, 1982;

ZWINGMANN, W.: Lebensmittelhygienische und -rechtliche sowie chemisch-analytische Beurteilung von mit ambulant eingesetzten Separatorenanlagen gewonnenem Restfleisch.

Fleischwirtschaft 60 (1980), 63.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L. KOTTER danke ich für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Ratschläge und die kritische Durchsicht meiner Arbeit.

Besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. habil. Chr. RING, für die Betreuung der Arbeit.

Herrn Ministerialrat Dr. K. ZRENNER danke ich für wertvollen Ratschläge und Hilfen bei der Materialbeschaffung, Herrn Dr. G. KRAUSSE für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Frau Hölzl und Frau Ogrizek danke ich für technische Hilfeleistungen.

LEBENSLAUF

Am 12. Juli 1953 wurde ich in München als Sohn des techn. Angestellten Günther DAUM und seiner Frau, der med.techn. Assistentin Mia Daum, geb. Peters geboren.

Von 1959 bis 1963 besuchte ich die Volksschule an der Klenzestr. 48 in München.
Im Herbst 1963 wechselte ich an das Albert-Einstein-Gymnasium über, an dem ich 1973 mein Abitur bestand.
Von Januar 1974 bis zum Dezember 1975 war ich im Luftwaffen-Sanitätsdienst der Bundeswehr.
Zum WS 1976/77 begann ich mein Tiermedizin-Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, an der ich am 3. Dezember 1981 mein Staatsexamen bestand.
Am 25. Januar 1982 erfolgte die Approbation als Tierarzt.
Anschließend begann ich mit Anfertigung meiner Dissertationsarbeit.
Seit dem 1. Januar 1983 arbeite ich als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München.